



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NELSON FERNANDO HERCULANO SELESU

DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE MICROALGAS EM
FOTOBIORREATOR INDUSTRIAL USANDO EFLUENTE SUÍNO BIODIGERIDO

Curitiba
2015

NELSON FERNANDO HERCULANO SELESU

DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE MICROALGAS EM
FOTOBIORREATOR INDUSTRIAL USANDO EFLUENTE SUÍNO BIODIGERIDO

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção de grau de Mestre. Área de concentração: Engenharia e Ciência dos Materiais, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais - PIPE. Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. José Viriato Coelho Vargas

Co-orientadora: Prof. Dra. Maria Cristina Borba Braga

Co-orientador: Prof. Dr. André Bellin Mariano

Curitiba
2015

S464d

Selesu, Nelson Fernando Herculano

Desenvolvimento do processo de produção de microalgas em fotobiorreator industrial usando efluente suíno biodigerido/ Nelson Fernando Herculano Selesu. – Curitiba, 2015.

94 f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, 2015.

Orientador: José Viriato Coelho Vargas – Co-orientador: Maria Cristina Borba Braga – Co-orientador: André Bellin Mariano.

Bibliografia: p. 85-94.

1. Microalgas. 2. Água residuária da suinocultura. 3. Biorremediação. 4. Flocculação. I. Universidade Federal do Paraná. II. Vargas, José Viriato Coelho. III. Braga, Maria Cristina Borba. IV. Mariano, André Bellin. V. Título.

CDD: 631.861



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais- PIPE
Setor de Tecnologia


RELATÓRIO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

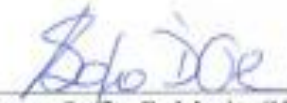
Aos vinte e quatro dias do mês de abril de 2015, no Salão nobre de Tecnologia - no Centro Politécnico - UFPR, foi instalada pela Prof.^a Dr.^a Ana Sofia C. M. de Oliveira, coordenadora do PIPE – Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais, a Banca Examinadora para a trecentésima defesa de dissertação de mestrado na área de concentração: Engenharia e Ciência dos Materiais. Estiveram presentes no ato, além do coordenador do Curso de Pós-Graduação, professores, alunos e visitantes. A Banca Examinadora, atendendo a determinação do colegiado do Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciências dos Materiais, foi constituída pelos professores doutores: Prof. Dr. José Viriato Coelho Vargas (UFPR), Ricardo Henrique Moreton Godoi (UFPR), Emerson Dilay (UP), Cassia Maria Lie Ugaya (UTFPR). Às 14:00 horas, a banca iniciou os trabalhos, convidando o candidato **NELSON FERNANDO HERCULANO SELESU** a fazer a apresentação da dissertação de mestrado intitulada **“DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE MICROALGAS EM FOTOBIORREATOR INDUSTRIAL USANDO EFLUENTE SUÍNO BIODIGERIDO.”** O referido trabalho teve a co-orientação do Prof. Dr. André Bellin Mariano e a Prof. Dr.^a Maria Cristina Borba Braga. Encerrada a apresentação, iniciou-se a fase de arguição pelos membros participantes. Tendo em vista a dissertação e a arguição, a banca decidiu pela A PROVAÇÃO do candidato, (de acordo com a determinação dos artigos 68 e 69 da resolução 65/09 de 09.11.2009).

Curitiba, 24 de abril de 2015.


Prof. Dr. José Viriato Coelho Vargas
Orientador


Prof. Dr. Ricardo Henrique Moreton Godoi
Examinador


Prof.^a Dr.^a Cassia Maria Lie Ugaya
Examinador


Prof.^a Dr.^a Ana Sofia C. M. de Oliveira
Coordenadora do PIPE

*Aos senhores Sabino e Teresa,
minha esposa Franciellen
meus irmãos, amigos,
à minha filha Louise Sofia
pela paciência, união e amor.
Em especial ao Sr. Domingos
Herculano (in memoriam), pelo
exemplo de vida*

Agradecimentos

Sou grato:

Por estar vivo e por ter o maior presente que poderia desejar, a minha filha Louise Sofia “Fofis”.

Aos senhores Sabino Selesu e Teresa Wimbo Herculano por me darem a condição de viver e estudar a despeito das suas satisfações pessoais.

Aos meus irmãos Bela, Didi, Juny, Vanda, Sheri, Neusa, Elsa e Edna pelo companheirismo, amor e atritos que me tornaram mais capaz.

À minha esposa Franciellen Fagundes pela Paciência e companheirismo.

Aos professores Ana Celestino, Amália Franco, Paulo Fontoura que me orientaram ao longo da vida acadêmica, formatando o profissional que viria a me tornar.

Ao professor José Viriato Coelho Vargas pela crença e disponibilização de recursos para desenvolver e implementar o meu trabalho no NPDEAS.

À professora Maria Cristina Borba Braga por disponibilizar o Laboratório de Engenharia ambiental (LABEAM) e a técnica Luciane Prado para me auxiliar nas análises físico-químicas do efluente.

Ao Dr. Wellington Ballmant pelo incansável esforço em ajudar a desenvolver o modelo matemático.

Ao Dr. André Bellin Mariano pela Co-orientação e discussões sobre mixotrofia.

Ao professor Rafael Bruno Vieira pela colaboração nos estudos da floculação.

À poderosa equipe Nilko que esteve presente ao longo destes anos contribuindo com ideias, risadas e conhecimento a quando da implementação do uso do efluente suíno como meio de cultivo padrão no NPDEAS.

Ao Litílio Patrício, João Carlos e aos meus amigos pela parceria, amizade e ajuda nos momentos chave da minha vida.

Aqui vão os meus sinceros agradecimentos

*“Se mais tenho que perder
mais quero que me leves,
contanto que me deixes
os olhos para te ver
pois pretendo deixar o mundo hoje
melhor do que ontem
e o amanhã melhor que hoje”
Adaptação de Camões; Baden-Powel*

RESUMO

Pelo aumento na poluição ambiental e a demanda por novas matrizes energéticas e produtos, as microalgas vêm recebendo atenção da comunidade científica devido as suas grandes potencialidades industriais. As microalgas desempenham um papel importante no tratamento de resíduos agroindustriais e domésticos, reduzindo suas cargas de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e matéria orgânica. A produção de microalgas, otimização do processo de recuperação da biomassa, bem como a modelagem matemática da sua cinética de crescimento formam tripé indispensável para a redução de custos de produção de biomassa microalgal para fins energéticos. Portanto, o presente trabalho objetivou desenvolver um processo de produção de biomassa de microalgas em fotobiorreator tubular industrial, usando efluente suíno biodigerido, avaliar a eficiência de biorremediação do efluente suíno e investigar alternativas de separação e recuperação da biomassa via floculação com o agente floculante polimérico Tanfloc SG. Foram testadas seis condições de cultivo com a finalidade de se verificar a demanda de nutrientes e de matéria orgânica no metabolismo da microalga e assim comprovar as suas atividades mixotróficas e de biorremediação, o teste de floculação foi elaborado em jarrest usando como parâmetros analíticos pH e concentração do floculante, o cultivo em escala industrial foi elaborado no fotobiorreator piloto. A biorremediação foi determinada por meio das análises de depuração da matéria orgânica e nutrientes pelas microalgas. Os resultados obtidos mostraram uma produção de biomassa em efluente suíno 2,4 vezes maior em relação ao cultivo com meio controle e os rendimentos em concentração celular foram 3 vezes superiores ao controle. Com base nos resultados obtidos foi possível confirmar o aumento da atividade metabólica da microalga, bem como o seu papel como poderosa ferramenta de biorremediação através da depuração de nutrientes acima de 40%, estas taxas de depuração estão em concordância com a legislação vigente para a disposição de efluentes nos corpos receptores. A floculação da biomassa com Tanfloc SG apresentou 96% de eficiência de remoção, dado similar ao uso da quitosana e sua implementação em larga escala se justifica por não ser tóxico e ser economicamente atrativo.

Palavras chave: microalgas; efluente suíno biodigerido; biorremediação; floculação.

ABSTRACT

With increasing environmental pollution, demand for new energy matrixes and new products, the microalgae have been receiving special attention from the scientific community due to their great industrial potentialities and applications. They play an important role in the treatment of agro-industrial and household wastes, reducing the nutrient levels (nitrogen and phosphorus) and organic matter. The production and optimization of biomass recovery process, as well as mathematical modeling of the kinetic growth of the microalgae form an essential tripod to reduce the overall costs of the existing process which use the microalgae biomass for energetic purposes. By this way, the present study aimed to develop a production process of microalgae biomass in tubular photobioreactor fed with biodigested swine wastewater as a source of nutrients and organic matter, evaluate the bioremediation efficiency of swine wastewater during the process, as well as investigate a flocculation process using Tanfloc SG a polymeric agent. Six culture conditions of culturing were tested in order to verify the microalgae nutrients and organic matter uptake through metabolic activity and thus substantiating the mixotrophic and bioremediation activities, the flocculation test was carried out in jarrest in which the pH and Tanfloc SG concentration were used as analytical parameters and the cultivation on industrial scale was developed in the pilot photobioreactor. Bioremediation has been determined through depuration analysis of organic matter and nutrients by microalgae. The results showed that the biomass production and cell number were, respectively, 2.4 and 3 times higher in biodigested swine wastewater culturing medium than in synthetic culturing medium (control). Based on the results we confirm the increased metabolic activity of microalgae, as well as its role as a powerful tool for bioremediation through nutrients depuration above 40%, these depurations rates are in accordance with current legislation of wastewater disposal in the receiving bodies. The biomass flocculation with Tanfloc SG showed 96% removal efficiency, as observed in the use of chitosan and its large-scale implementation is justified because it is non toxicity and being economically attractive.

Key words: microalgae. swine wastewater. Bioremediation. Flocculation

LISTA DE TABELAS

TABELA 2-1 PRODUTOS DE ALTO VALOR AGREGADO DAS MICROALGAS E SUAS APLICAÇÕES	22
TABELA 2-2-ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE RP E FBRs	26
TABELA 2-3 - PRODUTIVIDADE EM BIODIESEL DE MATÉRIAS-PRIMAS TRADICIONAIS EM COMPARAÇÃO AO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DAS MICROALGAS.	32
TABELA 2-4 - ESTUDOS DESENVOLVIDOS NO NPDEAS VISANDO A REDUÇÃO DE CUSTOS DO MEIO DE CULTIVO E AUMENTO DE PRODUTIVIDADE DA BIOMASSA	36
TABELA 4-1 - PARÂMETROS INICIAIS DE CULTIVO OBSERVADO NO EXPERIMENTO	43
TABELA 4-2 - CRONOGRAMA DE ANÁLISE DOS PARÂMETROS DO CULTIVO	44
TABELA 4-3-COMPOSIÇÃO E ANÁLISE DO MEIO CHU	46
Tabela 4-4 COMPOSIÇÃO USADO EFLUENTE SUÍNO BIODIGERIDO	47
TABELA 5-1 VARIAÇÃO DA ABSORBÂNCIA AO LONGO DO CULTIVO	59
TABELA 5-2-EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO DE COD NOS CULTIVOS	72
TABELA 5-3-EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO DE NITROGÊNIO NOS CULTIVOS.....	73
TABELA 5-4-EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO DE FÓSFORO NOS CULTIVOS	73
TABELA 5-5 - RESULTADOS DA EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS USANDO A PRIMEIRA CCD	74
TABELA 5-6 – RESULTADO DE η_f SOB DIFERENTES CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE ACORDO COM A SEGUNDA MATRIZ CCD	77
TABELA 5-7 - ANÁLISE COMPARATIVA DOS AGENTES FLOCULANTES.....	78
TABELA 5-8 - DEPURAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E NUTRIENTES NO FBR	80
TABELA 5-9 - PRODUÇÃO DE BIOMASSA NO FBR AO LONGO DO ESTUDO.....	82

LISTA DE SÍMBOLOS E ABREVIATURAS

ATP- Adenosina trifosfato

A/L -Meio alternativo suíno autoclavado na luz

A/E - Meio alternativo suíno autoclavado no escuro

AA - Ácido araquidônico

CO₂ - Dióxido de carbono

[CO₂] - Concentração de CO₂ (g.L⁻¹)

B_x - Biomassa seca (mg.L⁻¹)

B_{xi} – Biomassa no início do cultivo (mg.L⁻¹)

B_{xf} - Biomassa no final do cultivo (mg.L⁻¹)

B₀ - Microfiltro antes da filtração (g)

B₁ - Peso do microfiltro depois da filtração (g)

COD - Carbono total dissolvido (mg.L⁻¹)

CHU -Meio sintético chu

CHU+GLC - Meio sintético modificado chu mais glucose

d - Dias

DHA – Ácido docosahexanoico

EPA Ácido eicosapentanoico

FBR – Fotobiorreator

GWH – Gigawatt-hora

H₂O - Água

N - Densidade celular (cel.mL⁻¹)

n - Número de mols

NA/E - Meio alternativo suíno não autoclavado no escuro

NA/L -Meio alternativo suíno não autoclavado na luz

nm - Nanometros

N:P – Relação nitrogênio e fósforo da microalga

NPDEAS – Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável

N_{td} - Nitrogênio total dissolvido

O_2 - Oxigênio.

PUFA - Ácidos polinsaturados

RP - Sistemas abertos ou raceway ponds

S - Desvio padrão

t - Tempo (h)

t_d – Intervalo de coleta

UFPR – Universidade Federal do Paraná

UV-Vis – Ultravioleta no visível

$X_{(j)}$ - Concentração de biomassa ($mg.L^{-1}$)

$[X_{(j)}]$ - Concentração celular no reator ($células.mL^{-1}$)

Y_1 – Tempo de mistura (min)

Y_2 – Velocidade de agitação (rpm)

Z_1 – Concentração de Tanfloc SG (mg/L)

Z_2 – pH

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2-1 REAÇÕES FOTOSSINTÉTICAS NA LUZ E NO ESCURO.....	19
FIGURA 2-2 CICLO DE CALVIN-BENSON	20
FIGURA 2-3 MICROALGAS DO GÊNERO <i>Scenedesmus</i>	21
FIGURA 2-4 REPRESENTAÇÃO DOS TIPOS DE FOTOBIOREATORES: a) SISTEMAS ABERTOS PARA CULTIVO DE MICROALGAS; b) FOTOBIOREATORES PARA CULTIVO DE MICROALGAS	23
FIGURA 2-5 - FLUXOGRAMA GERAL DO NPDEAS.....	35
FIGURA 3-1 ROTEIRO DAS ESTRATÉGIAS DE TRABALHO	39
FIGURA 4-1 - FOTOBIOREATOR USADO NO EXPERIMENTO	41
FIGURA 4-2 - DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CULTIVO EM 6 CONDIÇÕES DISTINTAS ENTRE SI.....	41
FIGURA 4-3 MICROALGA DO GÊNERO <i>Scenedesmus</i> (400X).....	45
FIGURA 4-4 SISTEMA DE BIODIGESTÃO DO NPDEAS	47
FIGURA 4-5 REAÇÃO DE BERTHELOT.....	50
FIGURA 4-6 REAÇÃO DE COMPLEXAÇÃO DO DIAZO COMPOSTO.....	51
FIGURA 4-7 REAÇÃO DE COMPLEXAÇÃO DO DIAZO COMPOSTO A PARTIR DO NITRATO.....	52
FIGURA 4-8- CULTIVO DE MICROALGA NO FBR	56
FIGURA 4-9 SCALE UP INÓCULO DO FBR.....	57
FIGURA 5-1 - FLUXOGRAMA DA APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS OBTIDOS NESTE TRABALHO	58
FIGURA 5-2-ASPECTO VISUAL DO CRESCIMENTO CELULAR: (a) INÍCIO DE CULTIVO; (b) FINAL DE CULTIVO.....	60
FIGURA 5-3 - DESEMPENHO CELULAR (a) E DE BIOMASSA (b) PARA MEIOS CHU E CHU+GLC	62
FIGURA 5-4 - DESEMPENHO CELULAR (a) E BIOMASSA (b) PARA MEIOS CHU E LUZ NÃO AUTOCLAVADA.....	63
FIGURA 5-5 - DESEMPENHO CELULAR (a) E DE BIOMASSA (b) PARA MEIOS CHU E LUZ AUTOCLAVADA.....	65
FIGURA 5-6 DESEMPENHO CELULAR (a) E BIOMASSA (b) PARA MEIOS LUZ AUTOCLAVADA E NÃO AUTOCLAVADA.....	66
FIGURA 5-7 DESEMPENHO CELULAR (a) E BIOMASSA (b) PARA MEIOS NO ESCURO E CHU ..	68
FIGURA 5-8 ANÁLISE DE CO ₂ (a) E O ₂ (b) NO CULTIVO	70
FIGURA 5-9-DEPURAÇÃO DO COD NOS CULTIVOS	71
FIGURA 5-10 SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DA EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO (η_f)	75
FIGURA 5-11 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA η_f EM FUNÇÃO DO TC E pH	78

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
2.1	MICROALGAS.....	17
2.1.1	Fotossíntese.....	19
2.1.2	Gênero <i>Scenedesmus</i>	20
2.2	APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DAS MICROALGAS	21
2.3	SISTEMAS INDUSTRIAIS DE CULTIVO DE MICROALGAS	23
2.4	SISTEMA DE TRATAMENTO DE EFLUENTE SUINO BIODIGERIDO COM MICROALGAS	26
2.4.1	Eutrofização	29
2.5	SISTEMA DE RECUPERAÇÃO INDUSTRIAL DA BIOMASSA DE MICROALGAS	30
2.6	BIODIESEL DE MICROALGAS	31
2.7	LIMITAÇÕES DAS APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DA PRODUÇÃO DE MICROALGAS	33
2.7.1	Sistema integrado: efluente, microalga e biogás	33
2.8	PRODUÇÃO DE MICROALGAS NO NPDEAS	34
2.9	DESAFIOS CIENTÍFICOS	37
3	JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS.....	38
3.1	OBJETIVO GERAL	38
3.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	38
3.3	PLANO DE PESQUISA.....	39
4	MATERIAIS E MÉTODOS	40
4.1	ROTA METABÓLICA E OS PARÂMETROS DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE MICROALGAS.....	40
4.1.1	Cultivo em airlift	40
4.1.2	Microalgas	44
4.1.3	Meio sintético CHU	45
4.1.4	Meio alternativo (efluente suíno)	46
4.1.5	Concentração celular e biomassa	48
4.1.6	pH	48

4.1.7	Densidade ótica.....	48
4.1.8	Biomassa seca	49
4.2	CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO PROCESSO.....	49
4.2.1	Determinação de nitrogênio amoniacal	50
4.2.2	Determinação de nitrogênio nitrito	51
4.2.3	Determinação de nitrogênio nitrato	52
4.2.4	Determinação de nitrogênio total.....	52
4.2.5	Determinação de ortofosfato	53
4.2.6	Determinação de fósforo total dissolvido (P-P _{TD})	53
4.2.7	Determinação de carbono total dissolvido (COD)	53
4.2.8	Análises do comportamento dos gases do comprimido do sistema.....	54
4.3	SEPARAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DA BIOMASSA	54
4.4	CULTIVO EM FBR TUBULAR PILOTO	55
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	58
5.1	ROTA METABÓLICA E OS PARÂMETROS DA PRODUÇÃO DE MICROALGAS EM AIRLIFTs	58
5.1.1	Análise visual	58
5.1.2	Desempenho em termos de concentração celular ($[X_{(j)}]$) e biomassa ($X_{(j)}$)	61
5.1.3	Variação do <i>pH</i>	68
5.1.4	Depuração de gases do ar comprimido.....	69
5.2	CARACTERISAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA	71
5.2.1	Depuração de matéria orgânica	71
5.2.2	Nitrogênio e Fósforo	73
5.3	RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA.....	74
5.3.1	Ajuste do tempo de mistura (Y1) e velocidade de agitação (Y2)	74
5.3.2	Ajuste da concentração do tanfloc (Z1) e o pH (Z2).....	76
5.3.3	Comparação da eficiência do tanfloc com outros agentes floclulantes	78
5.4	CULTIVO EM FBR TUBULAR INDUSTRIAL	79
5.4.1	Recuperação por floclulação da biomassa produzida no FBR tubular piloto	81

6	CONCLUSÕES.....	83
6.1	ATIVIDADES FUTURAS.....	84
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	85

1 INTRODUÇÃO

O homem ao procurar mecanismos para sua sobrevivência e comodidade libera agentes poluidores ambientais quer nas suas atividades fisiológicas, industriais e sanitárias. A caracterização dos resíduos evidencia a presença de altas concentrações de carbono orgânico, nitrogênio e fósforo nos resíduos. No setor agroindustrial, os resíduos produzidos na suinocultura possuem um papel relevante devido às altas quantidades produzidas que devem ser corretamente manejadas para se reduzir ao máximo os efeitos do impacto ambiental.

Desta forma, se torna necessária a existência de um processo de tratamento com o objetivo de minimizar o impacto danoso do efluente suíno ao meio ambiente, atendendo as resoluções padrões de despejo vigente local, nacional ou internacional. Uma alternativa para se reduzir os teores de carbono, nitrogênio e fósforo presentes nos efluentes da suinocultura é usando microrganismos tais como as bactérias fermentativas, fungos e microalgas, que sequestram estes elementos para produção de biomassa.

As microalgas são organismos unicelulares e microscópicos de vida livre predominante em distintos ecossistemas, que podem crescer em qualquer meio contendo fontes de nitrogênio e fósforo, sem muito controle dos parâmetros de pH e contaminantes. As principais características das microalgas são a presença de lipídeos e carboidratos em sua constituição celular, a produção de hidrogênio que as tornam potenciais fontes de matéria-prima para produção de biocombustíveis. Os biocombustíveis de microalgas são o bioetanol, o biodiesel que tem indicadores promissores para o cenário energético global no futuro e o biohidrogênio.

Entretanto, os dados de produtividade das microalgas para aplicações industriais no setor de biocombustíveis ainda são incipientes, visto que carecem de um entendimento maior das particularidades do processo, tais como a forma de produção e aumento de produtividade do processo, a etapa de recuperação da biomassa, extração dos ácidos graxos e produção do biodiesel, que inviabilizam economicamente o uso das microalgas como fontes de biodiesel.

1.1 ORGANIZAÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nesta etapa do trabalho apresenta-se o panorama organizacional do trabalho por capítulos da dissertação.

O capítulo 1 apresenta uma introdução ao tema e motivações para a realização deste estudo;

O capítulo 2 traz uma revisão sobre o panorama energético mundial e do Brasil, cenário de geração de resíduos suínos e suas aplicações industriais, estado da arte do cultivo de microalgas bem suas aplicações na geração de biodiesel e bioprodutos, seu papel biorremediativo e as formas de recuperação da biomassa;

O capítulo 3 apresenta os desafios do cultivo da microalga, os objetivos gerais e específicos que se pretende abordar neste trabalho;

O capítulo 4 mostra integralmente a metodologia empregada no cultivo e recuperação de microalgas, avaliações de depuração de nutrientes e matéria orgânica, a metodologia de recuperação da biomassa via floculação;

O capítulo 5 apresenta os resultados numéricos alcançados, bem como os avanços científicos que este trabalho se propôs a alcançar;

No capítulo 6 as ilações desta pesquisa são apresentadas, bem como as sugestões para trabalhos futuros no setor;

O capítulo 7 apresenta as referências bibliográficas consultadas.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MICROALGAS

Os microrganismos fotossintéticos desempenham um importante papel no processo de conversão de energia solar em energia química devido aos mecanismos de atividade fotossintética. A conversão fotossintética gera uma expectativa de ser uma alternativa eficiente em distintos campos da indústria. As microalgas, organismos altamente fotossintéticos, são reconhecidas como uma das formas mais antigas de vida do planeta Terra, e têm sido estudadas devido ao seu grande potencial em gerar uma grande variedade de metabólitos (SONG et al., 2008).

Conceitualmente, as microalgas são organismos unicelulares e microscópicos de vida aquática, seu habitat característico varia com a espécie em questão, podendo ser encontradas tanto na água (mar, rio, lagos) como no solo, e estruturalmente as suas células podem ser divididas em dois grupos principais (Lee, 2008):

1. Os procariontes, microalgas com células nas quais se verificam a ausência de membrana circundando as organelas (flagelos, mitocôndrias, núcleos, aparelho de Golgi e plastídios), grupo este representado pelas cianobactérias;
2. Os eucariontes, microalgas com complexa organização intracelular. A membrana plasmática é responsável por todo o fluxo de substâncias químicas que ocorre na célula, tais como fixação de CO₂ e liberação de metabólito secundário é, portanto, um mecanismo chave para a sobrevivência da célula

Quando comparadas às bactérias e os outros organismos, as microalgas requerem parâmetros de controle menos restritos de temperatura, pH e nutrientes. Desta forma, qualquer fonte nutricional contendo nitrogênio e fósforo pode ser usado pelas microalgas no seu metabolismo, os quais podem ser autotrófico, heterotrófico e mixotrófico (Andrade *et al.*, 2008; Brennan e Owende, 2010; Mata, Martins e Caetano, 2010; Kao *et al.*, 2012).

As microalgas autotróficas são aquelas que utilizam compostos inorgânicos como dióxido de carbono (CO_2) como fonte de carbono e dependendo da sua fonte de energia elas podem ser ainda classificadas em fotoautotróficas, quando através da fotossíntese usam a energia solar para a manutenção celular e reprodução. A presença da luz se configura como um parâmetro importante para o crescimento da microalga, visto que interfere nas alterações da ultraestrutura, nas propriedades biofísicas e fisiológicas, bem como no rendimento do processo global de produção de biomassa de microalgas. Níveis altos de luminosidade induzem a produção de mais clorofila, por reduzir a intensidade luminosa, mais polissacarídeos e mais agentes protetivos como os carotenoides secundários que fazem a função de bloqueadores solares do maquinário fotossintético. Para estes grupos de algas a síntese de organelas celulares a partir do CO_2 obedece a uma demanda estequiométrica ou coeficiente de rendimento ($Y_{(\text{CO}_2/\chi)}$) de pelo menos $1,85 \text{ CO}_2/\text{g}$ de biomassa produzida (Andrade e Costa, 2008; Da Rosa Andrade e Vieira Costa, 2008).

Os organismos heterotróficos usam compostos químicos orgânicos para atender a sua demanda de carbono e também se observam duas rotas de obtenção de energia, a fotoheterotrófica, na qual só se usa a energia advinda da luz e a quimioheterotrófica na qual os compostos orgânicos são oxidados para se obter energia. Os organismos heterotróficos se classificam em dois subgrupos quando se refere ao quesito nutricional, ou seja, elas podem microalgas fagocíticas, que absorvem partículas de alimentos por completo nas suas vesículas alimentares para a digestão, ou osmotróficas quando absorvem apenas alimentos solúveis através da membrana plasmática (Lee, 2008).

Algumas microalgas são mixotróficas ou facultativamente heterotróficas, nas quais as microalgas são capazes de usar tanto os compostos orgânicos suplementados ao meio de cultivo, quanto o CO_2 como fonte de carbono em presença da luz. O cultivo de microalgas pela rota heterotrófica ou mixotrófica apresenta rendimento e concentração de lipídeos melhor que a rota autotrófica, visto que se verifica que a disponibilidade de luz é o fator limitante e a velocidade de crescimento cai durante a noite ou em áreas sombreadas durante o cultivo autotrófico e que no cultivo heterotrófico e/ou mixotrófico fontes orgânicas são

usadas a noite para a manutenção das taxas de crescimento (Koller *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2014; Mohamed *et al.*, 2014; Yoo, Kim e Lee, 2014).

2.1.1 Fotossíntese

Fotossíntese é uma poderosa ferramenta de sobrevivência por meio da qual os organismos fotossintéticos conseguem produzir matéria orgânica a partir do carbono inorgânico (CO_2) e da luz solar.

O processo fotossintético pode ser também denominado como uma reação redox desencadeada pela luz solar, que se dá em duas etapas distintas conhecidas como reações na luz e reações no escuro (FIGURA 2-1).

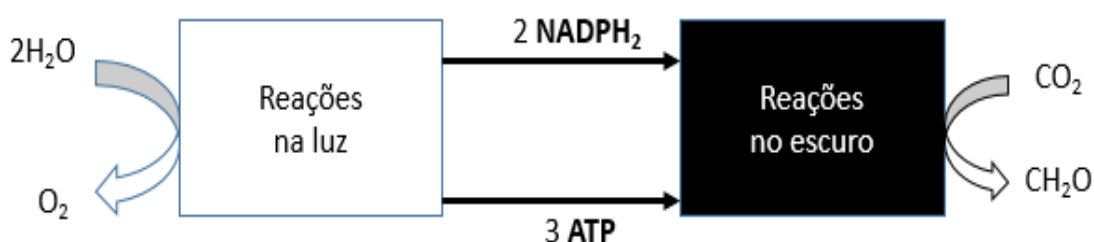


FIGURA 2-1 - REAÇÕES FOTOSSINTÉTICAS NA LUZ E NO ESCURO

FONTE: Adaptado de Microalgal culture: Biotechnology and applied phycology (2004)

As reações fotossintéticas ocorrem através das reações bioquímicas sequenciais de transformação do CO_2 em carboidratos e os principais constituintes da célula (Richmond, 2008). As reações da luz ocorrem na membrana tilacóide e possuem a função de liberação de NADPH_2 e ATP essenciais à assimilação do carbono inorgânico. Portanto, a energia luminosa é retida em duas fotorreações elaboradas por dois complexos pigmento-proteína PSI e PSII, e se verifica a extração e transferência de um par de elétrons da água para o NADPH_2 e de forma simultânea ocorre o transporte de prótons gerando um gradiente de pH que desencadeia a síntese do ATP pela ação da ATPase. Durante a fotossíntese verifica-se a evolução do oxigênio e a proporção entre este e a intensidade luminosa determina a extensão da atividade fotossintética. Em baixa irradiação a taxa da

fotossíntese depende linearmente da intensidade luminosa, com o aumento desta última se verifica uma redução da eficiência fotossintética.

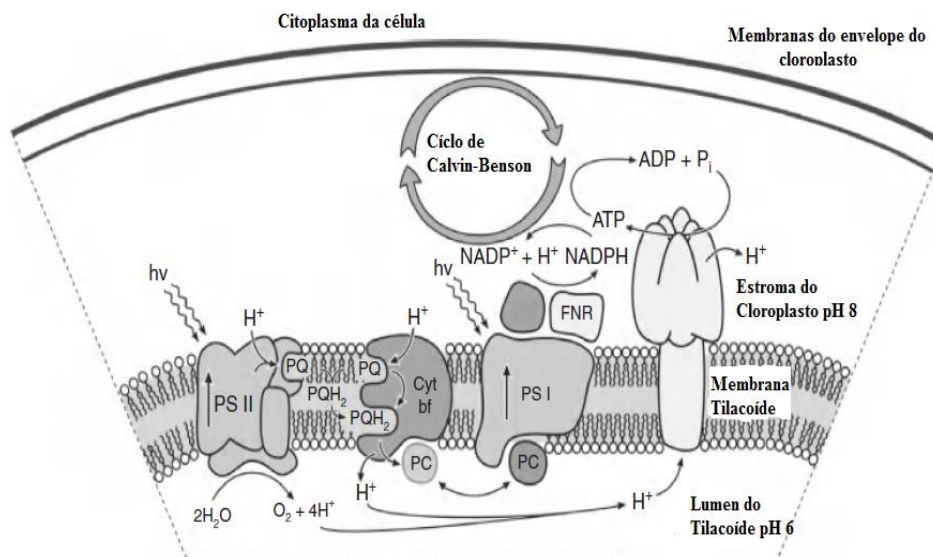


FIGURA 2-2 - CICLO DE CALVIN-BENSON

Fonte: Adaptado do livro Microalgal culture: Biotechnology and applied phycology (2004)

Uma vez gerado os agentes redutores $NADPH_2$ e o ATP, ocorre a fixação do CO_2 e para que esta reação se processe são gastos dois $NADPH_2$ e três de ATP, o que equivale a 13 kcal. O mecanismo desta reação foi descrito por Calvin e Benson e ocorre em quatro etapas distintas, a fase de carboxilação onde ocorre a formação de duas moléculas de fosfoglicerato a partir da carboxilação da ribulose pela enzima Rubisco; a fase redutora, onde se produz a triose-fosfato através da fosforilação do fosfoglicerato pelo ATP seguido da redução do difosfoglicerato a fosfogliceraldeído pelo $NADPH_2$; A fase de regeneração onde a ribulose fosfato é regenerada para a fixação da próxima molécula de CO_2 ; e por último a fase de produção onde se produzem principalmente carboidratos, porém também são sintetizados ácidos graxos, aminoácidos e também ácidos orgânicos fundamentais para a sobrevivência da microalga (Masojídek, Torzillo e Koblížek, 2013)

2.1.2 Gênero *Scenedesmus*

Scenedesmus é o gênero de algas verdes com metabolismo autotrófico, heterotrófico e mixotrófico. As espécies de *Scenedesmus* diferem-se principalmente

no número de células que se apresenta na forma de colônias de múltiplos de 2, chegando a 32 células por colônia e, raramente, dependendo das condições de cultivo são unicelulares, na forma dos espinhos das células e na textura da sua parede celular (Lee, 2008). O formato unicelular permite uma maior estabilidade no meio e a sua razão superfície volume capta mais nutrientes e luz solar. As células podem ser elipsoides, ovoides, fusiformes e podem ser todas iguais ou as externas serem de uma forma e as internas de outra, conforme mostrado na FIGURA 2-3 (Lee, 2008). Estas algas são comumente encontradas no plâncton de água doce de rios, lagos e lagoas.

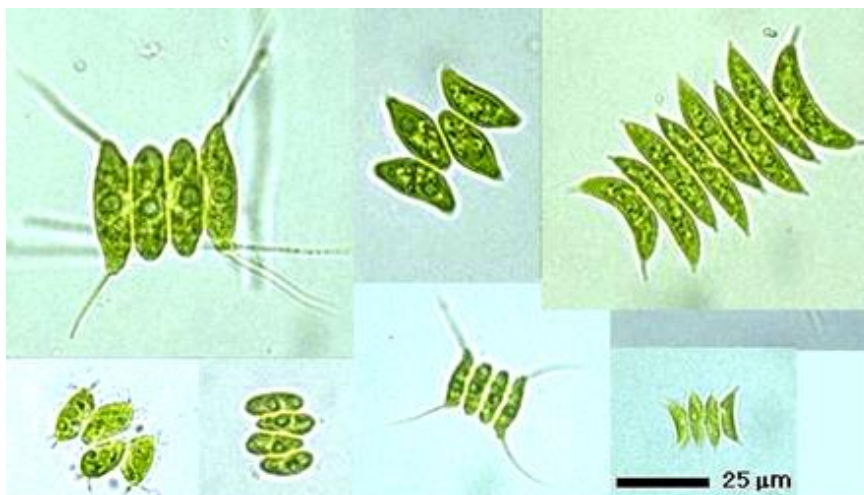


FIGURA 2-3 - MICROALGAS DO GÊNERO *Scenedesmus*.
FONTE: SITE *Scenedesmus* (2013)

O teor de lipídios das microalgas do gênero *Scenedesmus* pode variar de 10 - 70% em cultivos padrões, entretanto pela experiência do grupo que atua no NPDEAS, esses valores acima de 30% de teor de lipídios são difíceis de serem alcançados em larga escala.

2.2 APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DAS MICROALGAS

As microalgas possuem nas suas estruturas moleculares diversos compostos orgânicos com grandes potencialidades comerciais na indústria alimentícia, cosmética, saúde, energética, etc., o que as torna excelentes biofábricas

de, uma grande variedade de ácidos polinsaturados (PUFA), incluindo aqueles de valor agregado como os ômega 3, o ácido araquidônico (AA) e o docosahexanoico (DHA), ácido eicosapentanoico (EPA). A TABELA 2-1 apresenta alguns produtos extraídos das microalgas e suas aplicações no cotidiano:

TABELA 2-1 PRODUTOS DE ALTO VALOR AGREGADO DAS MICROALGAS E SUAS APLICAÇÕES

Produtos	Aplicações
Alimentos	Suplemento proteico/ fortificação de dietas de adultos e crianças desnutridas
Alimentação animal	Suplemento de proteínas e vitaminas para peixes, aves e frutos do mar.
Terapia	Produção de pigmentos para tratamento de câncer. Regulação da síntese de colesterol. Produção de antibióticos.
Pigmentos	Produção de pigmentos para indústria alimentícia e reagentes analíticos.
Química Fina	Polissacarídeos para gomas. Glicerol para alimentos, cosméticos
Combustíveis	Extração de lipídios para produção de biocombustíveis: biodiesel, hidrogênio, Biogás.
Hormônios	Auxinas, giberilinas.
Outros	Condicionador de solos. Tratamento de efluentes: bovino, suíno e sanitário.

FONTE: Adaptado (Becker, 1994)

Os tópicos que se seguem apresentarão uma abordagem com maiores detalhes dos métodos industriais de cultivo de microalgas, os métodos de separação industrial das microalgas do meio de cultivo e as aplicações industriais de microalgas a que este trabalho se dedica, o tratamento de dejetos suínos e a produção de biomassa para a geração de biodiesel.

2.3 SISTEMAS INDUSTRIAIS DE CULTIVO DE MICROALGAS

O cenário no qual as microalgas são produzidas a nível industrial para as distintas finalidades envolvem basicamente dois modelos específicos, os sistemas abertos ou raceway ponds (RP) e os sistemas fechados ou fotobiorreatores (FBRs), que possuem suas particularidades centradas no arranjo, padrões de operação, grau de contaminação, custo, consumo energético, produtividade e outros (FIGURA 2-4).



FIGURA 2-4 - REPRESENTAÇÃO DOS TIPOS DE FOTOBIORREACTORES: a) SISTEMAS ABERTOS PARA CULTIVO DE MICROALGAS; b) FOTOBIORREACTORES PARA CULTIVO DE MICROALGAS

a) FONTE: CYANOTECH, (2014) b) FONTE: NPDEAS (2012)

A maioria processos de produção de microalgas com finalidades comerciais ocorrem em sistemas abertos devido a simplicidade operacional e baixos custos para construção. Os arranjos das lagoas para o cultivo variam em tamanho, forma, material de construção, sistema de agitação e declive e dependem das condições locais e disponibilidade de terreno. A profundidade dos sistemas aberto, que normalmente é inferior a 40 cm, interfere de forma significativa na sua produtividade que chega até 500 mg.L⁻¹ visto que por meio dela ocorre a difusão da luminosidade ao longo da lagoa (Chen, 2007).

Os fotobiorreatores tubulares apresentam vantagens sobre os raceway ponds devido ao uso de menor área, a maior superfície de contato solar, menores taxas de contaminação, rendimentos melhores, baixas taxas de perda volumétrica por evaporação, temperatura mais uniforme, distribuição homogênea do CO₂, mistura eficiente e altas taxas de iluminação (Tabela 2-2) (Pruvost *et al.*, 2009; Brennan e Owende, 2010; Mata, Martins e Caetano, 2010; Chen *et al.*, 2011; I. Rawat, 2013; Vargas *et al.*, 2014).

Entretanto, uma desvantagem impactante do uso dos sistemas fechados é a formação de biofilmes, classificados como colônias de microrganismos que se adaptam e proliferam sobre superfícies sólidas devido à ação de polímeros extracelulares (EPS) liberados pelos microrganismos durante o cultivo e os debrís celulares resultantes da degradação celular, na parede interna das tubulações do fotobiorreator, impedindo assim a penetração da luz através dos tubos e reduzindo a produtividade do sistema devido à morte celular (Kumar e Anand, 1998; Rawat *et al.*, 2011; Selesu *et al.*, 2012; I. Rawat, 2013).

Do ponto de vista de geometria os fotobiorreatores são classificados em reatores de placas planas, que são de formato retangular e transparente com volumes de trabalho variados com grande turbulência do meio causada pelo ar comprimido alimentado ao sistema ou pela bomba de recirculação, estes reatores possuem como principal característica, a grande área de exposição a luz solar, que beneficia a atividade fotossintética e o aumento da produtividade do sistema (até 28 g.m⁻²) (Wang *et. Al.*, 2012).

Os reatores tubulares são comuns e constituídos de tubos transparentes construídos de PVC arranjados em diversos padrões (retos ou espiralados) e orientações (horizontal, vertical e inclinado) com o intuito de atender a demanda por luz solar e ao sistema de aeração, o sistema de recuperação e ao sistema de

circulação do meio. O arranjo horizontal permite uma maior superfície de exposição em relação ao vertical devido a possibilidade de se reduzir o diâmetro dos tubos, entretanto, aquecem mais requerendo um sistema de controle de temperatura (Richmond, 1987; Watanabe e Hall, 1995).

Os reatores inclinados são uma variante dos reatores horizontais com arranjos inclinados (45°) para permitirem aumentar as velocidades das bolhas, retenção das bolhas e as trocas gasosas do sistema (Tredici et. Al., 1998).

Os reatores verticais são cilíndricos e de fluxo ascendente, com diâmetros de até 0,4 m e altura de até 4 m, com a restrição de altura associada às limitações de troca gasosa e a resistência dos materiais usados para construir o sistema.

Airlifts (ALs) e coluna de bolhas são exemplos de fotobiorreatores tubulares verticais que têm a vantagem de ser compactos e de baixo custo e permitem maior tempo de residência dos gases no sistema que é benéfico para o caso do gás carbônico, e a circulação do sistema é feita apenas pelo ar alimentado ao sistema. Verifica-se que os ALs são operacionalmente mais vantajosos em relação aos coluna de bolhas devido as características de fluxo ao longo do reator e quase sempre suas produtividades são até 50% maiores que aquelas encontradas nos reatores de coluna de bolhas (Miyawaki, 2014; Xu, 2002).

Dadas as vantagens supracitadas verifica-se atualmente uma evolução rápida e constante do uso dos sistemas fechados pela sociedade em geral e para o setor de produção industrial em particular, com o objetivo de melhorar a captura e distribuição de luz, a transferência de massa e aumentar a produtividade do processo global de produção de biomassa (Miyawaki, 2014).

TABELA 2-2 ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE RP E FBRs

Particularidades do sistema	Raceway ponds	Fotobiorreatores
Construção e Arranjo	Lagoas ou tanques aerados de cimento e areia	Tubulares, placas planares construídos em PVC e metal
Operação	Baixa mecanização e mão de obra não especializada	Alta mecanização e mão de obra especializada
Troca gasosa (CO ₂)	Deficiente	Aceitável
Volume de trabalho	Grande	Moderado
Área ocupada	Grande	Mínima área ocupada
Grau de contaminação	Alto	Reduzido
Incidência luminosa	Fraca	Forte
Produtividade	Baixa	Moderada
Custo global	Baixo	Alto

FONTE: O autor (2014).

2.4 SISTEMA DE TRATAMENTO DE EFLUENTE SUINO BIODIGERIDO COM MICROALGAS

Dada à versatilidade de aplicações da biomassa de microalgas no cenário global, é importante conhecer a forma real como a microalga funciona do ponto de vista metabólico e com isso, obter um processo que tenha os maiores rendimentos possíveis. O conhecimento da demanda nutricional da célula constitui uma das ferramentas adequadas para se chegar a tais rendimentos. O meio de cultivo padronizado em todo o cultivo de microalga para as mais distintas finalidades deve conter na sua formulação micro e macronutrientes em condições adequadas para a satisfação de todas as necessidades metabólicas da microalga. Assim, é necessário formular um meio nutricional que tenha uma boa relação dos macronutrientes (N:P) que fica entre 16-20, para não comprometer o rendimento metabólico da microalga e uma concentração de micronutrientes suficientes (potássio, cobre, ferro e outros),

bem como uma boa fonte de carbono para o crescimento celular (Molina Grima, Belarbi e Fernández, 2003; Yusuf, 2007; San Pedro *et al.*, 2014).

A densidade populacional de suínos no mundo é da ordem de 971 milhões de cabeças, sendo que deste montante cerca de 32 milhões de cabeças são brasileiras (Binacional e Fao, 2009). Os resíduos suínos são caracterizados pelo alto teor de sólidos suspensos, matéria orgânica e altos conteúdos de nitrogênio e fósforo (Viancelli *et al.*, 2013). Os resíduos suínos devem ser corretamente manejados para se reduzir ao máximo os efeitos do impacto ambiental. A taxa de geração de resíduos suínos por animal por dia é de 5,80 kg, e se for considerado apenas a população suína brasileira, verifica-se uma produção diária de 185600 toneladas de resíduos. Esta quantidade de resíduos não pode ser disposta diretamente no meio ambiente, pois acarretaria sérios problemas ambientais, tais como a descaracterização do padrão do solo e dos corpos receptores, tornando-os inapropriados e gerando problemas de eutrofização em corpos de água, o que afetaria de forma significativa a biodiversidade local, devido a sua alta concentração de matéria orgânica e nutrientes.

Portanto, a metodologia de remoção de matéria orgânica e nutrientes do efluente suíno se faz necessária previamente a sua disposição. Diversas técnicas de redução orgânica e nutricional são largamente empregadas, destacando-se as lagoas de sedimentação e lodos ativados, bem como os processos de biodigestão anaeróbica.

Estudos de remoção de matéria orgânica e nutrientes do efluente suíno empregando as microalgas já existem e são uma escolha extremamente importante devido ao duplo papel que se desempenharia, o de não poluição dos corpos receptores e o de fornecer de forma barata e com menor impacto ambiental a matéria orgânica (COD) e os nutrientes (nitrogênio e fósforo) para o bom curso do processo de produção de biomassa de microalgas no NPDEAS (Kim *et al.*, 2007; Rawat *et al.*, 2011; Cai, Park e Li, 2013; Taher, 2013; Miyawaki, 2014). Estes estudos estão centralizados em sistemas abertos e/ou consideram frações filtradas de efluente suíno ou que estejam no seu estágio terciário de tratamento.

A capacidade das microalgas em biorremediar os nutrientes presentes em efluentes urbanos e agroindustriais é largamente conhecido no cenário científico há muitos anos, entretanto, pouco se sabia sobre a metabolização da matéria orgânica

presente nestes efluentes em presença da luz (Martínez *et al.*, 2000; Obaja *et al.*, 2003; Jimenez-Perez *et al.*, 2004; Fierro, Sanchez-Saavedra e Copalcua, 2008).

Dos estudos que abordam o consumo da matéria orgânica pelas microalgas destacam-se os estudos no quais foram analisados a remoção de nutrientes e matéria orgânica presentes em resíduos da extração de azeite de oliva e resultaram na produção de biomassa com remoção de 67% do COD (Hodaifa, Martínez e Sánchez, 2008).

Com o intuito de ser obtida uma alta produtividade de biomassa de microalgas (Taher, 2013) usou efluente suíno biodigerido filtrado na concentração 10% (v/v) suplementado com molibdato de sódio para cultivar microalgas do gênero *Scenedesmus sp.* em fotobiorreatores *airlift* (ALs) de 11L, sob condições ambientais de luminosidade e temperatura por 18 dias, como resultado verificou uma produtividade de biomassa 50% maior que no cultivo de microalgas usando o meio de cultivo sintético.

Em alguns estudos é possível verificar o potencial de biorremediação e a produtividade de biomassa aumentarem durante o cultivo de um consórcio de microalgas em fotobiorreatores distintos aerados usando frações diluídas de efluente suíno primário biodigerido (Obaja *et al.*, 2003; Obaja, Mace e Mata-Alvarez, 2005; Kim *et al.*, 2007), tais como a produtividade de biomassa observada durante o cultivo em lagoa aberta operada em batelada de 24 g/m².d, com taxas de incorporação de nitrogênio e fósforo de 1,8 e 0,30 g/m².d, respectivamente o que configura o consórcio microalgal como ferramenta biorremediativa a ser estudada de forma mais detalhada (Mulbry *et al.*, 2008).

Outra característica essencial a ser observada durante o uso de efluente suíno para a produção de biomassa de microalgas para fins industriais é sem dúvida a capacidade destes microrganismos em reduzir os teores da carga orgânica (COD) presente para minimizar os problemas ambientais intrínsecos da disposição direta do efluente nos corpos receptores. Dependendo da cepa de microalgas usadas é possível verificar teores de remoção de COD nos efluentes superiores a 65%, bem como incremento acima de 40% na produtividade da biomassa (Jimenez-Perez *et al.*, 2004; Dichtl, Rogge e Bauerfeld, 2007; Mulbry *et al.*, 2008; Wang, Bluck e Van Wie, 2014).

2.4.1 Eutrofização

Eutrofização é o aumento da concentração de nutrientes, especialmente fósforo e nitrogênio, nos ecossistemas aquáticos, que tem como consequência o aumento de suas produtividades. Como decorrência deste processo, o ecossistema aquático passa da condição de oligotrófico e mesotrófico para eutrófico ou mesmo hipereutrófico.

O nitrogênio é um dos elementos mais importantes no metabolismo de ecossistemas aquáticos. As principais fontes de nitrogênio são a chuva, matéria inorgânica (amônia, ureia, nitrogênio gasoso, nitrito, nitrato, etc.) e orgânica (proteínas, purinas, aminas e aminoácidos) de origem alóctone e pela fixação de nitrogênio molecular atmosférico. O nitrogênio é responsável por 7-10 % do peso seco da célula da microalga e é um constituinte fundamental de todas as proteínas funcionais da célula, enzimas, clorofilas, nas moléculas energéticas e no material genético.

As microalgas possuem rotas metabólicas que se adequam às formas de nitrogênio disponíveis no meio, a fim de promover a assimilação e fixação deste. Se a microalga cresce em condições limitadas de nitrogênio verifica-se um desvio da rota de síntese proteica dando preferência à síntese de carboidratos e lipídeos. Durante a assimilação da fonte de nitrogênio se verifica que o nitrogênio amoniacal é a forma preferida das algas eucarióticas devido à ausência de uma reação redox, que para a célula é benéfico porque ocorre uma economia de energia, e que as outras formas de nitrogênio só são consumidas no meio de cultivo quando não há mais a presença do nitrogênio amoniacal no meio (Cai, Park e Li, 2013).

O fósforo é um macronutriente semelhante ao nitrogênio que desempenha um papel vital na célula, visto que este é usado para formar componentes estruturais e funcionais para o bom crescimento, desenvolvimento e manutenção celular da microalga (Gantar, Obreht e Dalmacija, 1991; Jimenez-Perez *et al.*, 2004; Cai, Park e Li, 2013; Carey *et al.*, 2013). O fósforo se torna o agente limitante do crescimento celular, nos corpos receptores verifica-se que os altos índices de eutrofização estão associados aos superfluxos de fósforos.

A eutrofização pode ser natural ou artificial. Quando natural, é um processo lento e contínuo que resulta do aporte de nutrientes trazidos pelas chuvas e pelas

águas superficiais que erodem e lavam a superfície terrestre. A eutrofização natural corresponde ao que poderia ser chamado de “envelhecimento natural” do lago.

Quando ocorre artificialmente, ou seja, quando é induzido pelo homem, a eutrofização é denominada de artificial, cultural ou antrópica. Neste caso, os nutrientes podem ter diferentes origens, como: efluentes domésticos, efluentes industriais e/ou atividades agrícolas, entre outras. Este tipo de eutrofização é responsável pelo “envelhecimento precoce” de ecossistemas lacustres. A eutrofização artificial é um processo dinâmico, no qual ocorrem profundas modificações qualitativas e quantitativas nas comunidades aquáticas, nas condições físicas e químicas do meio e no nível de produção do sistema, podendo ser considerada uma forma de poluição.

2.5 SISTEMA DE RECUPERAÇÃO INDUSTRIAL DA BIOMASSA DE MICROALGAS

Para uso como matéria prima industrial, a biomassa de microalgas produzida nos FBR encontra-se muito diluída (0,5-2,5 g/L encontrados no NPDEAS) e carece de processos que a concentrem em fatores de 100-500 vezes. Portanto, tais fatores de concentração são alcançados usando operações unitárias criteriosamente selecionadas nos quais se consideram custo energético global do processo e a dificuldade operacional no pós processamento da biomassa resultante.

As principais técnicas usadas na recuperação de biomassa de microalgas incluem centrifugação, floculação, filtração, seleção, sedimentação gravitacional, flotação e técnicas de eletroforese, e cada uma destas apresenta vantagens e desvantagens.

A centrifugação e a eletro flotação são processos de concentração eficientes, porém muito onerosos devido ao alto consumo energético que demandam, a filtração e seleção demandam trabalho braçal constante para troca de filtros e tomam muito tempo, a floculação é um processo de baixo custo energético, porém a escolha do agente floculante caro encarece o processo (Uduman, Qi e Danquah, 2010; Chen *et al.*, 2011; Lu Chen, 2013).

O uso do processo de floculação da biomassa de microalgas tem sido largamente utilizado pela comunidade científica e neste processo são empregados

agentes flocculantes inorgânicos, incluindo os sais de metais de cátions polivalentes como $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, e FeCl_3 , e os coagulantes naturais de origem vegetal e animal, como a quitosana, que são polímeros policatiônicos naturais, biodegradáveis e atóxicos de ampla aplicabilidade industrial (Vieira *et al.*, 2012; Gerde *et al.*, 2014);.

O uso da quitosana como agente coagulante da biomassa de microalgas tem benefícios ambientais e operacionais, porém o seu custo ainda impacta de forma negativa no processo global de produção de biomassa, portanto, a procura de agentes flocculantes potenciais ainda se faz necessária com o intuito de se reduzir o custo da biomassa de forma global.

2.6 BIODIESEL DE MICROALGAS

Tem sido mostrado que a fonte lipídica para a geração de biodiesel representa acima de 75% do custo de produção do biodiesel, portanto, a escolha da melhor reserva lipídica é extremamente vital (Mata, Martins e Caetano, 2010; Atabani *et al.*, 2012; Pragya, Pandey e Sahoo, 2013).

As microalgas têm se mostrado uma alternativa viável para o crescimento do mercado de biodiesel. Isto se deve ao fato de serem fáceis de cultivar, seu tempo de cultivo ser relativamente curto (100 vezes mais rápido do que as plantas terrestres) e a não competição por espaços cultiváveis com as *commodities* alimentícias e ao seu elevado teor de lipídeos (Gong e Jiang, 2011; Jiang, Sommer e Christensen, 2011; Sharma, Schuhmann e Schenk, 2012).

A diversidade lipídica existente na microalga é vasta e a composição média das microalgas conta com um teor lipídico que equivale entre 30-70% do seu peso seco, estes valores podem variar durante o crescimento da microalga através da ação de fatores de cultivo como os nutricionais (nitrogênio e fósforo), ambientais (luz, temperatura), químicos (ferro, salinidade) de forma individual ou por seu efeito sinérgico no meio de cultivo durante a fase final de crescimento ou fase estacionária (Andersen, 2013; Hu, 2013). O óleo obtido a partir das microalgas é uma alternativa econômica fundamental de produção de biodiesel de terceira geração para substituir parte dos 95% do biodiesel de primeira geração produzidos mundialmente a partir de fontes vegetais comestíveis devido a sua produtividade que pode ser 20 vezes maior

que das espécies vegetais oleaginosas (Yusuf, 2007; Ahmad *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2013).

As microalgas apresentam índices de produtividades melhores que as fontes de biodiesel convencionais (oleaginosas como soja, milho e girassol) quando se considera a área ocupada e apresentam um rendimento 100 vezes maior do que o rendimento de biodiesel a partir da soja, podendo ser cultivadas sob condições ambientais críticas nas quais as cultivares oleaginosas convencionais não crescem, tais como águas residuárias com presença de substâncias em concentrações consideradas tóxicas para as fontes convencionais agrícolas (TABELA 2-3) (Brennan e Owende, 2010; Chen *et al.*, 2011).

Aliado a alta produtividade em relação às fontes oleaginosas, a biomassa residual resultante do processamento para a produção do biodiesel pode ser encaminhada para a produção de bioetanol, metano ou biofertilizantes devido à sua alta relação nitrogênio/fósforo e a presença de aminoácidos, ou ser queimada em um sistema de cogeração (Chisti, 2007; Mata, Martins e Caetano, 2010).

TABELA 2-3 - PRODUTIVIDADE EM BIODIESEL DE MATÉRIAS-PRIMAS TRADICIONAIS EM COMPARAÇÃO AO POTENCIAL DE PRODUÇÃO DAS MICROALGAS.

Matéria-Prima	Teor de óleo (%)	Produtividade em óleo (L.ha⁻¹.ano⁻¹)	Área necessária (m².ano⁻¹.kg⁻¹ biodiesel)	Produtividade em biodiesel (kg.ha⁻¹.ano⁻¹)
Milho	44	172	66	152
Soja	18	636	18	562
Pinhão-Manso	28	741	15	656
Canola	41	1.190	12	862
Girassol	40	1.070	11	946
Mamona	48	1.307	9	1.156
Palma	36	5.366	2	4.747
Microalgas	10	19.566	0,6	17.309
	30	58.700	0,2	51.927
	50	96.800	0,1	86.515
	70	136.900	0,1	121.104

FONTE: Adaptado de Mata, Martins e Caetano (2010)

2.7 LIMITAÇÕES DAS APLICAÇÕES INDUSTRIAIS DA PRODUÇÃO DE MICROALGAS

Recentemente, tem se dado importância ao uso de microalgas como reserva lipídica para a produção industrial de biocombustíveis devido ao seu potencial de escalonamento se comparado às outras fontes anteriormente citadas, entretanto, essa atenção dispensada ainda está em caráter prematuro e/ou amador, isto porque a pesquisa e desenvolvimento envolvendo a produção e processamento das microalgas em larga escala ainda encontram muitos problemas do ponto de vista técnico e operacional e o conhecimento até agora acumulado demonstra que é economicamente inviável obter biodiesel de microalgas. Portanto, muitos parâmetros técnicos e biológicos importantes para o estabelecimento da tecnologia de cultivo de microalgas para fins energéticos, tais como o efeito das condições ambientais, o sistema de cultivo a empregar, a seleção da cepa rica em lipídeo, as fontes de matéria orgânica e nutrientes e o impacto ambiental no uso de fontes alternativas, a rota metabólica da microalga e as tecnologias de separação, que devem ser desenvolvidos e otimizados em quase todos os estágios para se obter efetivamente biodiesel de microalgas (Chen *et al.*, 2011; Gong e Jiang, 2011; Rawat *et al.*, 2013).

2.7.1 Sistema integrado: efluente, microalga e biogás

A escolha da microalga para a produção de biodiesel combinada com o tratamento de resíduos líquidos tem sido fundamentada como uma área com atrativos comerciais em curto prazo. Muitos relatos apresentando a remoção de nitrato, fosfato e COD das águas residuárias após tratamento primário pelas microalgas, durante a produção de sua biomassa, têm sido relatados na literatura (Boeckeaert *et al.*, 2006; Hodaifa, Martínez e Sánchez, 2008; Akpor e Muchie, 2010; Wiley, Campbell e Mckuin, 2011; Cai, Park e Li, 2013).

A integração do sistema de produção de biodiesel com produção de biogás via digestão anaeróbica de resíduos agroindustriais mostrou-se uma alternativa para melhorar a viabilidade econômica e a sustentabilidade de processo global de geração de biodiesel via efluentes agroindustriais. O biogás gerado deve ser usado para suprir a demanda energética requerida durante os processos de cultivo,

desidratação, extração lipídica e transesterificação da microalga. Para tanto, este biogás, que possui na sua composição gases como CH_4 (45-70% v/v), o CO_2 (30-55% v/v), o H_2S (0-1% v/v) bem como traços de CO , H_2 e outros compostos, deve ser previamente tratado para se remover os demais componentes do biogás a exceção do CH_4 e dessa forma, se aumentar a eficiência volumétrica de combustão e evitar a corrosão dos motores (Ahring, 1995; Abatzoglou e Boivin, 2009; Bekkering, Broekhuis e Van Gernert, 2010; Audibert e Fernandes, 2013). Uma alternativa adequada para aumentar a eficiência de combustão do biogás pela remoção do CO_2 presente é feita através do uso da própria microalga como agente biológico de sequestro deste gás, ou seja, usando as microalgas presentes nos FBRs como biofiltros para a purificação do biogás, técnica relativamente recente, porém que apresenta resultados excelentes isto porque se verifica com o seu uso que a porcentagem do metano no biogás salta de 70% para 97% de CH_4 (v/v) (Maity *et al.*; Abatzoglou e Boivin, 2009; Harun *et al.*, 2011; Parmar *et al.*, 2011; Miyawaki, 2014). Entretanto, usando o uso do metano gerado na biodigestão pode impactar em uma redução dos custos energéticos de produção do biodiesel em 33 por cento (Harun *et al.*, 2011; Maity *et al.*, 2014; Miyawaki, 2014).

2.8 PRODUÇÃO DE MICROALGAS NO NPDEAS

O NPDEAS, Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável, foi implantado em 2008 e faz parte do Grupo de Energia e Ciências Térmicas da UFPR. É constituído por professores das Áreas de Engenharia, Química e Bioquímica, e os trabalhos desenvolvidos enfocam a solução de problemas científicos e tecnológicos cuja principal característica é o forte vínculo com as necessidades do setor produtivo baseado nos seus contratos de prestação de serviço público-privado (parceria com as empresas Nilko Metalurgia Ltda. e a PSA - Peugeot do Brasil).

O NPDEAS estabeleceu-se como referência no desenvolvimento de fotobiorreatores para produção de biomassa de microalgas. Atualmente são quatro fotobiorreatores tubulares em escala industrial construídos (12 m^3) usados no tratamento de resíduos agroindustriais e esgoto sanitário para a produção de biomassa de microalgas, bem como para a purificação do biogás e aumento do poder calorífico em um processo de fixação biológica de CO_2 pelas microalgas.

TABELA 2-4 - ESTUDOS DESENVOLVIDOS NO NPDEAS VISANDO A REDUÇÃO DE CUSTOS DO MEIO DE CULTIVO E AUMENTO DE PRODUTIVIDADE DA BIOMASSA

Autor	Objetivo	Título do trabalho	Volume de trabalho
Morais, 2011	Produção de biomassa pela rota autotrófica e mixotróficas	ANÁLISE E DESENVOLVIMENTO DE AQUICULTURA DA MICROALGA PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM EM CRESCIMENTO AUTOTRÓFICO E MIXOTRÓFICO EM FOTOBIOREATORES	2 L
Correa, 2013	Produção de biomassa em meio CHU	CULTIVO SEMICONTÍNUO DE UMA MICROALGA DO GÊNERO SCENEDESMUS EM FOTOBIOREATOR TUBULAR COMPACTO PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL E CARACTERIZAÇÃO DO SISTEMA DE CULTIVO	12 m ³
Lemos, 2012	Produção de biomassa em meio CHU reciclado	DESENVOLVIMENTO DE SISTEMA DE TRATAMENTO E RECICLAGEM DE MEIO DE CULTIVO DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL	2 L
Taher, 2013	Produção da biomassa usando efluente suíno biodigerido filtrado	BIODIESEL DE MICROALGAS CULTIVADAS EM DEJETO SUÍNO BIODIGERIDO	11 L
Oliveira, 2013	Produção de biomassa usando efluente da bovinocultura filtrado	PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS SCENEDESMUS SP. EM EFLUENTE DE BOVINOCULTURA BIODIGERIDO	2 L
Silva, 2014	Produção de biomassa usando esgoto sanitário	PRODUÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS CULTIVADAS EM ESGOTO SANITÁRIO BIODIGERIDO VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL	2 L
Miyawaki, 2014	Produção da biomassa com purificação de biogás em AL	PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS ATRAVÉS DE CULTIVO DE MICROALGAS EM RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS	11 L

Fonte: O autor, 2015

2.9 DESAFIOS CIENTÍFICOS

Com base no levantamento bibliográfico elaborado para este estudo (Boeckeaert *et al.*, 2006; Hodaifa, Martínez e Sánchez, 2008; Akpor e Muchie, 2010; Wiley, Campbell e Mckuin, 2011; Cai, Park e Li, 2013; Chen *et al.*, 2011; Gong e Jiang, 2011; Rawat *et al.*, 2013; Chisti, 2007; Mata, Martins e Caetano, 2010), foi verificado que o atual cenário de cultivo e produção de biomassa ainda apresenta enormes desafios do ponto de vista de escalonamento. Portanto, para a correta implementação e funcionamento da tecnologia de produção de biomassa de microalgas em escala industrial apresentam-se a seguir os principais desafios que merecem especial atenção da comunidade científica:

- Necessidade de fontes nutricionais alternativas e de baixo custo para o cultivo de microalgas;
- Necessidade de aumento de produtividade nos fotobiorreatores e o conhecimento dos parâmetros reais de cultivo;
- Necessidade de redução do biofilme que interfere na produtividade da microalga no FBR;
- Necessidade de aumento do teor lipídico;
- O uso de microalgas como ferramentas de biorremediação de resíduos industriais;
- O conhecimento de processos de recuperação da biomassa de forma eficaz;
- Redução de custos globais;
- O potencial das microalgas como biorrefinarias autossuficientes;
- A existência de modelos cinéticos do cultivo de biomassa de microalgas em fotobiorreatores tubulares usando efluente suíno biodigerido.

3 JUSTIFICATIVA E OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Partindo-se dos desafios supracitados, selecionou-se como objetivo geral o desenvolvimento de um processo de produção de biomassa de microalgas em escala piloto industrial usando efluente suíno biodigerido como meio de cultivo alternativo.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para se atingir o objetivo geral proposto foram estabelecidos os seguintes objetivos específicos:

- Identificar a rota metabólica e os parâmetros do processo de produção de microalgas usando o efluente suíno biodigerido 2,5% (v/v) em fotobiorreatores tipo airlift.
- Caracterizar os parâmetros físico-químicos do processo e as taxas de depuração da matéria orgânica e nutrientes presentes nos meios de cultivo nos ALs;
- Investigar alternativas de separação e concentração da biomassa por meio de testes de floculação com o polímero orgânico Tanfloc SG;
- Propor metodologia para cultivo de microalgas em fotobiorreator compacto em escala piloto, usando efluente suíno biodigerido, bem como identificar a sua capacidade de biorremediação ao longo do processo.

3.3 PLANO DE PESQUISA

O projeto foi desenvolvido no núcleo de pesquisa e desenvolvimento em energia autossustentável (NPDEAS) e no laboratório de engenharia ambiental do departamento de recursos hídricos e saneamento, ambos na Universidade federal do Paraná e o efluente suíno biodigerido foi tratado no biodigestor presente no NPDEAS. Os cultivos tiveram a duração estabelecida de 18 dias (FIGURA 3-1).

METAS	• ESTRATÉGIAS
Teste da atividade metabólica	<ul style="list-style-type: none"> • Cultivo de microalgas em ALs com meio controle e meio sugerido
Teste de recuperação	<ul style="list-style-type: none"> • Otimização de parâmetros físicos e concentração do Tanfloc SG • Comparação de desempenho com agentes da literatura
Cultivo em escala piloto - FBR piloto	<ul style="list-style-type: none"> • Produção do inóculo • Preparo do dejetto • Inoculação e monitoramento do cultivo
Scale up da floculação	<ul style="list-style-type: none"> • Flocular a biomassa obtida no FBR em floculador de 1m³

FIGURA 3-1 ROTEIRO DAS ESTRATÉGIAS DE TRABALHO

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 ROTA METABÓLICA E OS PARÂMETROS DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE MICROALGAS

Para a identificação da rota metabólica o autor se preocupou em identificar a melhor forma de cultivar a microalga nos fotobiorreatores Airlifts (ALs) usando o processo padrão, como controle, e outro no qual seria utilizado o efluente suíno biodigerido. A metodologia empregada no estudo será descrita a seguir:

4.1.1 Cultivo em airlift

Para a produção da biomassa em efluente suíno biodigerido, meio alternativo proposto a implementar no NPDEAS, foi efetuado o cultivo em fotobiorreatores do tipo Airlift (AL) com o objetivo de conhecer a demanda nutricional da microalga, sua produtividade em relação ao meio controle, bem como os padrões de biorremediação encontrados ao longo do cultivo, e partir destes resultados efetuar um scale up do cultivo de microalgas em fotobiorreator tubular de 10 m³.

O fotobiorreator airlift utilizado neste trabalho é uma variante do fotobiorreator tubular modular desenvolvido e patenteado pelo NPDEAS com o intuito de se efetuar nele um tratamento biológico de emissões poluentes gasosas e de efluentes líquidos por meio da atividade metabólica da microalga (*FIGURA 4-1*). O sistema é composto por uma válvula de entrada inferior de ar comprimido, que permite a difusão de ar por uma membrana porosa, criando assim microbolhas que movimentam o líquido na coluna de forma ascendente e facilitam a troca gasosa ao longo do reator. O fotobiorreator descarta a utilização de bombas de circulação, o que o torna menos oneroso energeticamente e facilita a manutenção. O fotobiorreator airlift foi construído com 2 (dois) tubos de PVC transparente, com um diâmetro interno de 5 cm e uma altura de 300 cm, verticalmente dispostos em paralelo e unidos entre si por conexões curvas, perfazendo um volume nominal de trabalho de 11 L (Miyawaki, 2014). A injeção de ar comprimido foi provida por um compressor com vazão controlada por rotâmetros. O cultivo da microalga nos FBRs

airlift foi preparado usando-se uma concentração de inoculo de 20% gerando uma concentração celular inicial de aproximadamente $4,00 \times 10^6$ céls.mL⁻¹

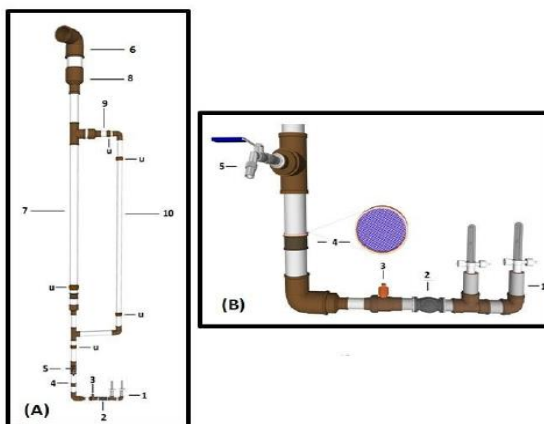


FIGURA 4-1 - FOTOBIORREATOR USADO NO EXPERIMENTO

FONTE: Miyawaki (2013)

Este experimento foi desenvolvido no NPDEAS durante 18 dias, período ao qual foram usados seis (6) fotobiorreatores com seis (6) condições distintas entre si para se verificar a presença ou ausência do comportamento mixotrófico durante o crescimento da microalga.

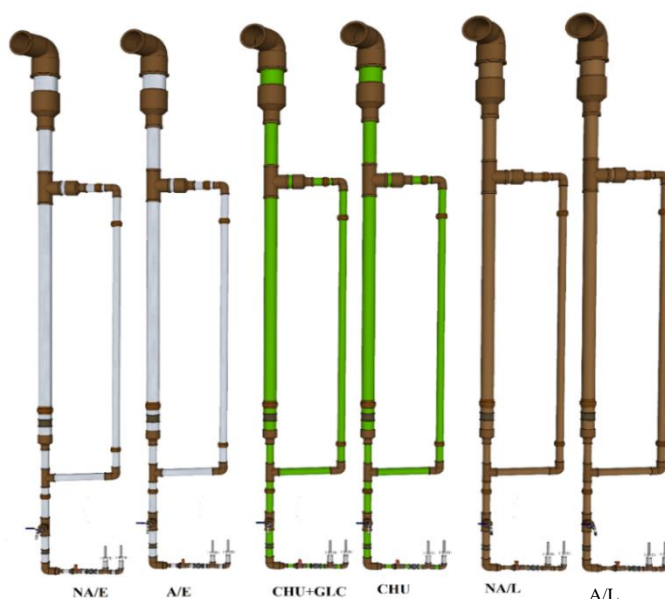


FIGURA 4-2 - DETERMINAÇÃO DOS PARÂMETROS DE CULTIVO EM 6 CONDIÇÕES DISTINTAS ENTRE SI.

LEGENDA: a) MEIO ALTERNATIVO SUÍNO AUTOCLAVADO NA LUZ (A/L); b) MEIO ALTERNATIVO SUÍNO NÃO AUTOCLAVADO NA LUZ (NA/L); c) MEIO SINTÉTICO MODIFICADO CHU (CHU); d) MEIO SINTÉTICO MODIFICADO CHU MAIS GLUCOSE (CHU+GLC); e) MEIO ALTERNATIVO SUÍNO AUTOCLAVADO NO ESCURO (A/E); f) MEIO ALTERNATIVO SUÍNO NÃO AUTOCLAVADO NO ESCURO (NA/E);

FONTE: Miyawaki (2013)

Pela característica do efluente suíno que possui alta carga proteica, nutricional e de carboidratos, algumas precauções foram tomadas, pois o teor proteico permite a formação de espuma no sistema durante a aeração do cultivo, o que é indesejável porque esta carrega consigo para fora do sistema os sólidos e biomassa e muda todas as características do cultivo, quer sejam de geração de biomassa ou físico-química. Portanto, para se manter o cultivo o mais uniforme possível e atendendo a geometria de circulação do sistema (Airlifts), foi convencionado que se teria a necessidade de se manter o cultivo por 18 dias, a vazão de ar comprimido em 1 L.min^{-1} , a adição em todos os reatores de uma alíquota de antiespumante (1 mL.L^{-1} cultivo) e todos os reatores ficaram expostos às condições ambientais de temperatura e luminosidade, com um volume de trabalho de 11 L. O cultivo em CHU modificado é amplamente divulgado na comunidade científica e foi escolhido neste estudo para servir como parâmetro de controle de crescimento da microalga em condições fotoautotróficas e por ser uma metodologia de cultivo presente em muitos trabalhos científicos desenvolvidos no NPDEAS (Lemos, 2013; Moraes, 2013; Taher, 2013; Miyawaki, 2014).

O cultivo em CHU+GLC foi escolhido neste estudo para se verificar o comportamento cinético da mistura de microalga em condições mixotróficas com a adição de 1 g.L^{-1} de glucose p.a. Este meio é uma modificação do CHU e também uma metodologia amplamente empregada na comunidade científica internacional (Chen *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2013; Li *et al.*, 2014).

Os cultivos em efluente suíno também foram elaborados para se verificar o comportamento cinético da mistura de microalga em condições mixotróficas, bem como as taxas de depuração de matéria orgânica e nutrientes nos ALs (Obaja *et al.*, 2003; Kim *et al.*, 2007; Cai, Park e Li, 2013). Desta forma, o efluente suíno foi usado sob duas condições, uma *in natura* (NA/L e NA/E) e outra autoclavada (A/L e A/E). A condição de cultivo da microalga em meio autoclavado surgiu devido à necessidade de minimizar a interferência da microbiota nativa do efluente suíno e por conseguinte permitir que a microalga tenha condição de metabolizar a matéria orgânica e nutrientes presentes no efluente suíno de forma autônoma. A condição autoclava foi dividida em etapa de crescimento mixotrófico na luz (A/L), no qual o reator é exposto à atividade fotossintética e ao crescimento heterotrófico em simultâneo, ou seja, para que a microalga tenha a condição de crescer em na presença da luz solar e

sem a interferência dos microrganismos trazidos do biodigestor, e a etapa de crescimento estritamente heterotrófico no escuro (A/E), no qual o reator AL foi completamente vedado com uma camada de papel alumínio para evitar qualquer incidência luminosa que induza a atividade da enzima Rubisco que é responsável pela fixação do carbono inorgânico na microalga e com isto permitir que se tenha um metabolismo no qual apenas a matéria orgânica seria a fonte de carbono para a produção de biomassa e energia. A condição *in natura* sofreu o mesmo tratamento que àquela autoclavada, ou seja, foi exposto à luz (NA/L), para se verificar a atividade metabólica da microalga na presença de microbiota local do biodigestor e à condição no escuro (NA/E) para evidenciar a atividade metabólica heterotrófica resultante.

Este estudo foi elaborado mantendo as características de cultivo apresentadas na TABELA 4-1:

TABELA 4-1 - PARÂMETROS INICIAIS DE CULTIVO OBSERVADO NO EXPERIMENTO

Parâmetros de cultivo	CHU	CHU+GLC	A/L	A/E	NA/L	NA/E
Volume de trabalho	11,00	11,0	11,00	11,00	11,00	11,00
% meio de cultivo	100	100	5,00	5,00	5,00	5,00
TOC inicial (mg.L ⁻¹)	22,58	328	327	327	303	303
Nitrogênio inicial (mg.L ⁻¹)	12,63	12,63	28,34	28,34	24,60	24,60
Fósforo inicial (mg.L ⁻¹)	5,952	5,852	1,383	1,383	5,722	5,722
Biomassa inicial (mg.L ⁻¹)	157	178	438	438	332	332
Nº de células iniciais (10 ⁶ céls.mL ⁻¹)	3,10	3,10	6,98	6,98	2,07	2,07
pH	7,17	7,17	9,16	9,16	8,83	8,83
Absorbância inicial em 540	0,585	0,585	2,548	2,548	1,71	1,710

FONTE: O autor (2014)

Controle –CHU; Controle suplementado -CHU+GLC; Autoclavado na luz -A/L; Autoclavado no escuro -A/E; Não autoclavado na luz-NA/L; Não autoclavado no escuro (NA/E)

Durante os 18 dias de cultivo foram monitorados os seguintes parâmetros apresentados na TABELA 4-2 alguns de forma diária e outros de forma alternada devido à complexidade analítica envolvida:

TABELA 4-2 - CRONOGRAMA DE ANÁLISE DOS PARÂMETROS DO CULTIVO

Parâmetro analisado	Frequência de análise
Concentração celular	Diária
Biomassa seca	Diária
pH	Diária
D.O: 540-670-750	Diária
Taxas de depuração de Fósforo (mg.L ⁻¹): P-P _t	Cada 4 dias
Depuração da matéria orgânica (mg.L ⁻¹): COD	Cada 4 dias
Taxas de depuração de Nitrogênio (mg.L ⁻¹): N-N _t	Cada 4 dias

FONTE: O autor (2014)

As condições de monitoramento da biomassa foram generalizadas e englobaram a contagem celular, determinação da biomassa seca, monitoramento da absorbância em 540, 670 e 750 nm. Do ponto de vista da biorremediação, foram monitorados as concentrações iniciais, duas intermediárias e uma final de nitrogênio, fósforo e TOC para se evidenciar o papel dos *Airlifts* como mecanismo de tratamento terciário de efluente suíno biodigerido. Foram ainda verificados os níveis de depuração dos gases advindos do ar comprimido.

4.1.2 Microalgas

Durante o desenvolvimento deste trabalho foi usado como inóculo uma mistura de microalgas do gênero *Scenedesmus* (figura 4-3), padronizado pelo NPDEAS em trabalhos anteriormente desenvolvidos pelo grupo (Taher, 2013; Miyawaki, 2014).

O inóculo foi obtido da biblioteca de cepas mantidas em uma sala de cultivo localizada no NPDEAS, sob condições controladas de temperatura, luminosidade aeração e particulados.

As cepas foram mantidas na sala de cultivo em frascos Erlenmeyers de 2,0 L com volume útil de até 75% em meio líquido CHU, sob temperatura de $17 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$, iluminação constante e ar comprimido para suprimento de CO_2 a uma vazão de $5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.

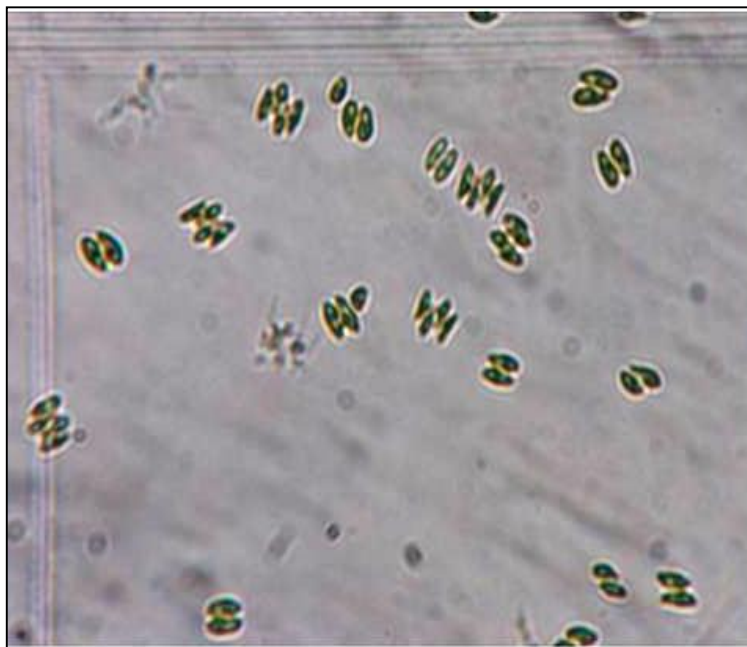


FIGURA 4-3 - MICROALGA DO GÊNERO *Scenedesmus* (400X)

FONTE: Correa (2014)

Esta mistura de microalgas está plenamente adaptada às condições ambientais de cultivo locais e se mostrou termorresistente em uma amplitude térmica de 38°C , pois foi verificado que não houve declínio da atividade celular das microalgas em um inverno rigoroso de -3°C , nem em um verão no qual se observou temperatura de até 35°C .

4.1.3 Meio sintético CHU

O meio de cultivo padrão amplamente usado nos diversos experimentos desenvolvidos no NPDEAS (Lemos *et al.*, 2013; Mariano *et al.*, 2013; Miyawaki, 2014) é o meio CHU modificado, formulado de acordo com a norma regulamentadora NBR 12648:2004 usando soluções de reagentes químicos p.a preparadas em água destilada conforme a TABELA 4-3 (Vega e Lobina, 2007). Após

preparo, as soluções são estocadas em garrafa âmbar e então mantidas em freezer a $4 \pm 2^\circ\text{C}$

TABELA 4-3 - COMPOSIÇÃO E ANÁLISE DO MEIO CHU

Reagente	Fórmula	Concentração (g.L ⁻¹)
Nitrato de sódio	NaNO ₃	0,25
Cloreto de cálcio di-hidratado	CaCl ₂ .2H ₂ O	0,025
Sulfato de magnésio hepta-hidratado	MgSO ₄ .7H ₂ O	0,075
Fosfato de potássio dibásico	K ₂ HPO ₄	0,075
Fosfato de potássio monobásico	KH ₂ PO ₄	0,175
Cloreto de sódio	NaCl	0,025
Triplex III EDTA	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ Na ₂ O ₈ .2H ₂ O	0,05
Hidróxido de potássio	KOH	0,031
Sulfato ferroso hepta-hidratado	FeSO ₄ .7H ₂ O	0,005
Ácido bórico	H ₃ BO ₃	0,01142
Sulfato de zinco hepta-hidratado	ZnSO ₄ .7H ₂ O	8,82x10 ⁻⁵
Cloreto de manganês hepta-hidratado	MnCl ₂ .4H ₂ O	1,44x10 ⁻⁵
Molibdato de sódio	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	7,1x10 ⁻⁶
Sulfato de cobre penta-hidratado	CuSO ₄ .5H ₂ O	1,57x10 ⁻⁵
Nitrato de cobalto hexa-hidratado	Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	4,9x10 ⁻⁶

FONTE: Adaptado da NBR 12648:2004.

4.1.4 Meio alternativo (efluente suíno)

Levando em consideração a missão do NPDEAS de desenvolver alternativas ambientalmente corretas e economicamente viáveis, tornou-se imperioso no grupo procurar e padronizar processos alternativos de produção e recuperação da biomassa de microalgas que visassem à melhoria global do processo por meio da minimização custos e impacto ambiental (Lemos, 2013; Taher, 2013; Miyawaki, 2014).

O efluente suíno biodigerido usado em todo o estudo como fonte alternativa de nutrientes e matéria orgânica a ser implantada no NPDEAS, foi obtida do biodigestor modular de fluxo ascendente e baixo tempo de residência, desenvolvido e construído pelo grupo (Sakuma, 2013). Este equipamento com uma capacidade de carga de 6 m³ e foi carregado com efluente suíno coletado em uma suinocultura da cidade de Araucária na região metropolitana de Curitiba (FIGURA 4-4):

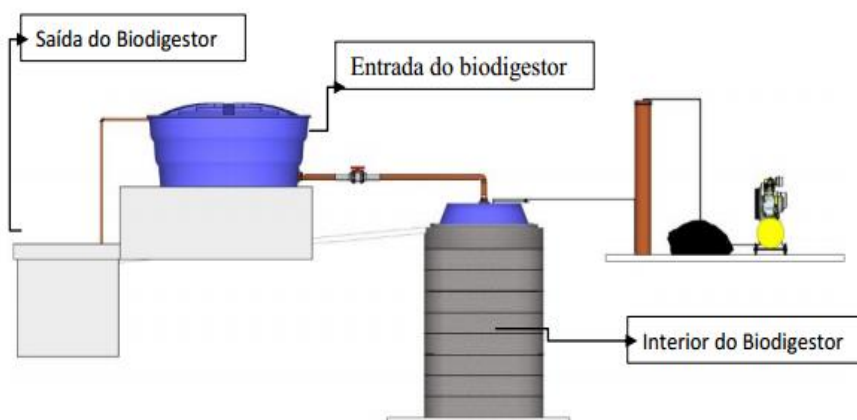


Figura 4-4 - SISTEMA DE BIODIGESTÃO DO NPDEAS

FONTE: Sakuma (2013)

Para o estudo em questão foi usado efluente suíno biodigerido na concentração de 2,5%, o qual apresentou a composição inicial antes de ser diluído para o cultivo nos Airlifts seguinte (TABELA 4-4):

TABELA 4-4 - COMPOSIÇÃO USADO EFLUENTE SUÍNO BIODIGERIDO

Parâmetros Avaliados	Efluente suíno biodigerido
TOC inicial (mg.L ⁻¹)	8100
Nitrogênio total (N-N _t) (mg.L ⁻¹)	197
DBO ₅ (mg.L ⁻¹)	8100
Fósforo total (P-P _t) (mg.L ⁻¹)	7,623
Biomassa inicial (mg.L ⁻¹)	11300

FONTE: O autor (2014)

4.1.5 Concentração celular e biomassa

Para a quantificação do número de células durante o cultivo monitorou-se diariamente o crescimento celular por meio de uma contagem destas em uma câmara de Neubauer com o apoio de um microscópio ótico. Como resultado final deste procedimento, obtém-se o número médio de células contadas por mililitro de cultivo multiplicado pela quarta potência com o dobro do desvio padrão ($\chi \times 10^4 \pm 2d_cél.s.mL^{-1}$) (Vega e Lobina, 2007; Andersen, 2013). Os resultados obtidos permitiram a elaboração de gráfico de crescimento celular por dia de cultivo.

4.1.6 pH

A alteração do pH ao longo do cultivo também é um indício de atividade metabólica no meio, visto que em presença de CO_2 , H_2CO_3 , e HCO_3^{-1} ocorre uma redução do pH meio e a medida que a microalga vai fixando estes gases pela ação da RUBISCO, ocorre uma elevação do pH (Becker, 1994).

A determinação do pH foi efetuada ao longo do cultivo por leitura direta diária na amostra usando um pHmetro digital modelo Gehaka PG 1800.

4.1.7 Densidade ótica

A concentração celular analisada por contagem também pode ser alcançada de forma indireta por meio da densidade ótica, que é uma técnica com menor precisão em relação a contagem, porém, permite ter uma noção mais rápida do comportamento cinético da microalga (Vega e Lobina, 2007). O seu principal inconveniente para este estudo no quesito quantificação celular reside no fato de contaminantes bacterianos e o meio de cultivo interferirem na absorção da luz e, portanto, darem resultados errôneos. Para este estudo a densidade ótica, analisada em triplicata, serviu apenas para dar uma ideia da tendência de crescimento da microalga e a análise foi efetuada por meio da diluição da amostra e subsequente leitura desta em três comprimentos de onda distintos, 540, 670 e 750 nm, respectivamente em um espectrofotômetro modelo UV-1601 Shimadzu spectrophotometer.

4.1.8 Biomassa seca

A determinação da biomassa seca (B_x (mg.L⁻¹)) permite ter uma percepção real da evolução mássica do cultivo de microalgas ao longo do tempo. Neste estudo, ela foi analisada diariamente em triplicata por meio da desidratação da amostra por meio das seguintes etapas:

- Identificação e secagem dos microfiltros de fibra de vidro, marca Macherey-Nagel GF-1 com diâmetro de 47 mm, em um analisador de umidade por infravermelho
- Resfriamento em um dessecador com grânulos de sílica gel por 30 minutos para se evitar novo ganho de umidade;
- Pesagens iniciais de cada microfiltro em uma balança analítica com precisão de 0,001mg da marca SHIMADZU.
- Filtração de alíquotas de 10 mL da amostra de cultivo no sistema kitassato com a aplicação de vácuo em cada microfiltro de fibra de vidro.
- Desidratação dos microfiltros com amostras no analisador de umidade e acondicionamento no dessecador por mais 45 minutos;
- Aferição da massa final dos microfiltros em uma balança analítica com precisão de 0,001mg.
- Determinação da biomassa seca através da razão do gradiente mássico dos microfiltros antes e após a filtração pelo volume de meio usado (eq.4-1)

$$B_x (\text{mg.L}^{-1}) = \frac{B_1 - B_0}{V_m} \quad (4-1)$$

Onde: B_0 e B_1 são os pesos dos microfiltros antes e depois da filtração, respectivamente; V_m é o volume do meio de cultivo usado.

4.2 CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO PROCESSO

As análises de nitrogênio e fósforo foram elaboradas a partir de metodologias adaptadas dos STANDARDS METHODS pelo Departamento de Hidráulica e Saneamento da UFPR. Todas as metodologias usadas aqui são

colorimétricas e possuem como característica principal a reação de complexação e formação de um corante que pode ser lido em um comprimento de onda específico (Clesceri, Greenberg e Eaton, 1998; Grossi, Lichtig e Krauss, 1998). Para todos os experimentos foi usado um espectrofotômetro UV-Vis e é necessária a presença de curvas padrões para a determinação das concentrações dos respectivos compostos no meio de cultivo.

Tanto o nitrogênio, quanto o fósforo totais foram analisados apenas em suas frações dissolvidas, isto porque a sua inclusão do processo de digestão em autoclave era danoso para a microalga, pois acarretaria na ruptura da célula microalgal e com isto, a manutenção dos níveis iniciais ou superiores destes nutrientes ao longo do experimento. Sendo assim, todas as amostras para a determinação de todas as formas de nitrogênio e fósforo passaram por um processo prévio de filtração em membrana de acetato de celulose 0,45 µm, com diâmetro de 47 mm da marca Sartorius Biotec. Os fatores de diluição para análise usadas em todo o experimento sofreram variação ao longo do cultivo, sendo mais diluídas (20-30 vezes) no começo em relação ao final do processo (5-15 vezes). Todo o experimento é elaborado em duplicata, para maior confiabilidade dos dados.

4.2.1 Determinação de nitrogênio amoniacal

A determinação do nitrogênio amoniacal é feita através da reação de Berthelot (1859) entre a amônia presente na amostra e o hipoclorito de sódio e fenol em meio básico, catalisado pelo nitroprussiato de sódio conforme representado a seguir (FIGURA 4-6):

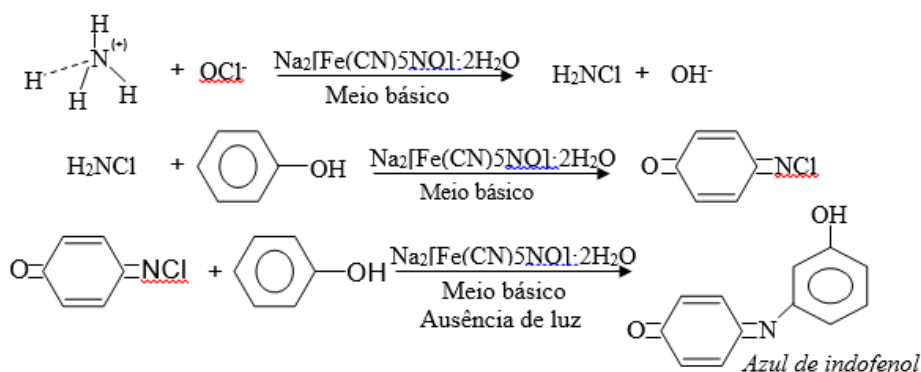


FIGURA 4-5 REAÇÃO DE BERTHELOT

Fonte: Standard methods (1998)

Alíquotas de 2 mL de amostra filtradas e diluídas foram separadas em duplicata em frascos de vidro e então foram adicionados 1 mL das soluções reativas 1 (hipoclorito alcalino) e a 2 (fenol+nitroprussiato de sódio). Após reação foi feita a leitura em 630 nm e comparadas com a curva padrão para se obter os valores da concentração de amônio na amostra.

4.2.2 Determinação de nitrogênio nítrico

O nítrico é determinado no meio de cultivo através da reação de complexação de Griess entre a sulfanilamida e o N-(1-naftil)-etilenodiamina que forma azocorante púrpura característico. Esta reação de complexação está esquematizada na figura 4-7

Após filtração da amostra, alíquotas diluídas de 10 mL são separadas e então se adiciona 0,4 ml da solução reativa de nítrico, composta de sulfanilamida, N-(1-naftil)-etilenodiamina e ácido fosfórico, para a formação do diazocomposto púrpura. Após 10 minutos deste procedimento é feita a leitura em 543 nm.

O resultado da leitura em 543 nm é pilotado na equação obtida da curva de calibração, que uma correlação para a determinação do nítrico na amostra.

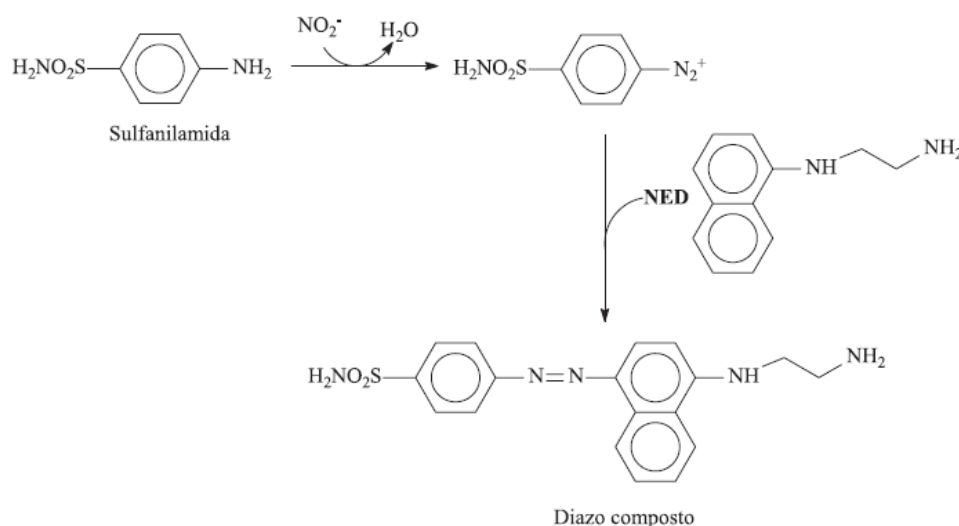


FIGURA 4-6 REAÇÃO DE COMPLEXAÇÃO DO DIAZO COMPOSTO

Fonte: Standard methods (1998)

4.2.3 Determinação de nitrogênio nitrato

A determinação do nitrato usa o procedimento do nitrito, mas para que tal aconteça ele deve sofrer uma redução prévia em uma coluna com grânulos de cádmio (Figura 4-7):

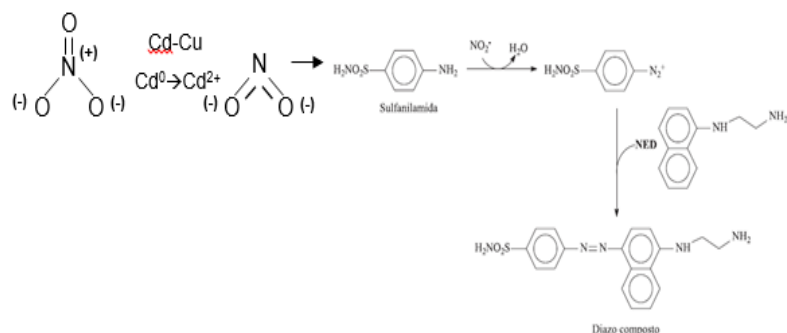


FIGURA 4-7 REAÇÃO DE COMPLEXAÇÃO DO DIAZO COMPOSTO A PARTIR DO NITRATO

Fonte: Standard methods (1995)

Assim, a amostra filtrada diluída em frações de 5 mL é misturada com 10 mL de NH_4Cl – EDTA em balão volumétrico de 50 mL e aferido com água destilada e então reduzida na coluna de cádmio. Recolhem-se os últimos 5 mL e então se adiciona 0,4 mL da solução reativa de nitrito e feita a leitura em 543 nm. Novamente aqui, uma equação de calibração de nitrato serve de parâmetro analítico para a determinação do nitrato na amostra.

4.2.4 Determinação de nitrogênio total

Para a determinação da concentração do nitrogênio total dissolvido presente na amostra, alíquotas de 5 mL de uma amostra diluída é tratada com 2,5 mL de solução digestora alcalina preparada para catalisar a reação de oxidação alcalina todas as formas de nitrogênio presentes em nitrato em autoclave. E este nitrato segue a sua metodologia de determinação sendo reduzido a nitrito via coluna de cádmio e em seguida feita a reação com a solução reativa de nitrito para posterior leitura em 543 nm. O resultado obtido é correlacionado com a curva de calibração do nitrato.

4.2.5 Determinação de ortofosfato

O ortofosfato foi determinado na amostra por meio da sua reação com o molibdato de amônio e antimônio tartarato de potássio em meio ácido para formar o ácido fosfomolibdico, que na presença do ácido ascórbico é reduzido a fosfomolibdato, um composto de coloração azul intensa característica. O fosfomolibdato resultante é então lido em 880 nm no espectrofotômetro. Para esta reação, as amostras foram previamente filtradas e diluídas, e os resultados obtidos nas leituras foram comparados com a curva de calibração para fosfato para a determinação da concentração (Murphy e Riley, 1962; Clesceri, Greenberg e Eaton, 1998).

4.2.6 Determinação de fósforo total dissolvido (P-P_{TD})

Para a determinação do fósforo total dissolvido presente na amostra, alíquotas de 5 mL de uma amostra diluída é tratada com 2,5 mL de solução digestora alcalina preparada para catalisar a reação de oxidação alcalina todas as formas de fósforo presentes em ortofosfato em autoclave. O ortofosfato resultante segue a sua metodologia de determinação sendo reduzido a fosfomolibdato para posterior leitura em 880 nm. O resultado obtido é correlacionado com a curva de calibração do ortofosfato.

4.2.7 Determinação de carbono total dissolvido (COD)

A quantificação do COD segue a metodologia especificada pelo fabricante do equipamento. Esta metodologia consiste na combustão catalítica a 680 °C da amostra quer seja ela uma molécula orgânica de baixo peso molecular, insolúvel ou de composição complexa e alto peso molecular. Após a combustão é feita a quantificação em um compartimento de detecção infravermelha não dispersiva (NDIR) em alta temperatura por meio de uma curva de calibração previamente elaborada.

A amostra a ser analisada foi previamente filtrada em uma membrana de acetato de celulose 0,45 μm e diluída 10-20 vezes para permanecer na faixa de até 100 mg.L^{-1} que é o limite máximo de detecção do equipamento e então acidificada e injetada no equipamento para leitura. Neste experimento foi usado o analisador de carbono orgânico da Shimadzu, o modelo TOC V-CPH (Shimadzu, 2014).

4.2.8 Análises do comportamento dos gases do comprimido do sistema

Para além de movimentar o meio de cultivo no reator e fornecer o CO_2 , o ar comprimido possui na sua composição outros gases que podem ou não ser consumidos durante o cultivo. Estes gases foram analisados na entrada e na saída dos cultivos com o objetivo de verificar o gradiente gasoso retido ou gerado, bem como o potencial da biomassa em removê-los. A análise dos gases foi elaborada com o analisador de gases da marca LANDCOM, modelo LAND III, no qual, o sensor do equipamento é colocado na saída de gases que se pretende analisar e em seguida feito a leitura de frações de gases.

O analisador é capaz de ler o monóxido de carbono (CO), dióxido de carbono (CO_2), dióxido de enxofre (SO_2), oxigênio (O_2), dióxido de nitrogênio (NO_2), óxido nítrico (NO), hidrocarbonetos não queimados (C_xH_y), sulfeto de hidrogênio (H_2S) e óxidos de nitrogênio (NO_x). Para padronização do erro associado às análises foram realizadas leituras em triplicata para cálculo da média e do desvio padrão.

4.3 SEPARAÇÃO E CONCENTRAÇÃO DA BIOMASSA

Para a separação da biomassa foi escolhido o processo de sedimentação da biomassa via floculação, que é uma metodologia largamente empregada na literatura e que apresenta um custo global do processo menor que outros procedimentos, tais como a centrifugação.

O estudo foi elaborado usando-se o delineamento composto central para se determinar os valores ótimos de floculação, considerando-se 3 pontos centrais e duas variáveis, o tempo de mistura e a velocidade de agitação, e mantendo-se a concentração inicial do Tanfloc SG em 300 mg/L e o pH 8,0 previamente conhecidos. Como consequência, foram elaborados 11 (onze) experimentos

elaborados em triplicata. Os melhores resultados obtidos nesta fase foram usados para um segundo delineamento composto central nos quais as variáveis independentes foram a concentração do Tanfloc SG variando entre 100-400 mg.L⁻¹ e o pH entre 6-11,5. A resposta da eficiência de floculação foi modelada usando uma equação polinomial quadrática empírica de segunda ordem obtida da regressão linear do método dos mínimos quadrados.

A etapa experimental do estudo de recuperação da biomassa para uso posterior envolveu a comparação da eficiência de floculação obtida por agentes floculantes metálicos, tais como Al₂(SO₄)₃, Ca(OH)₂, FeCl₃ e a quitosana, substâncias largamente utilizadas na separação de algas com um agente pouco conhecido e que tem aplicação conhecida no tratamento de água, o Tanfloc SG.

Todo delineamento foi conduzido em equipamentos *jar tests* equipados com béqueres com capacidade de trabalho de 2000 mL de amostra. As amostras foram agitadas usando as condições otimizadas e foram considerados ao longo do cultivo tempos de sedimentação de 30 minutos e após a sedimentação alíquotas de amostras foram retiradas dos béqueres para leitura da absorbância em 750 nm com o intuito de se avaliar a eficiência de floculação através da razão entre o gradiente de absorbância observado, antes e após a floculação, pela absorbância antes da floculação.

Após os experimentos em *jar test* foi realizado uma análise de custos com base nas eficiências de floculação encontradas e um *scale up* da floculação de microalgas usando Tanfloc SG em um floculador com 1 m³.

Ao longo do processo de floculação foi padronizado o uso do CO₂ comercial como agente acidificante para redução dos valores de pH da amostra a flocular.

4.4 CULTIVO EM FBR TUBULAR PILOTO

Depois de se comprovar os potenciais usos do efluente suíno como fonte de carbono e nutrientes para o cultivo de microalgas e do Tanfloc SG como agente floculante da biomassa de microalgas foi implementado e padronizado o cultivo de microalgas em FBR tubular (FIGURA 4-8). Este equipamento consiste de catorze ramais de tubos poliméricos de cloreto de polivinila (PVC) transparentes circulares, que possuem um comprimento final de 3,5 km, unidos entre si por bitolas de PVC

marrom, uma caixa de água de Polietileno de Média Densidade (PEMD) que serve como tanque de mistura do FBR, um degasser que permite a troca gasosa no meio e uma bomba sopro que efetua a movimentação do fluido. Todo este aparato é sustentado por uma grade metálica construída em aço mantida em uma estrutura de concreto armado (Vargas *et al.*, 2013). O FBR ocupa uma área de 8 m² e capacidade volumétrica de 12 m³, e a sua configuração alternada dos tubos de PVC permite uma maior área de exposição à incidência luminosa, essencial na atividade fotossintética pela microalga e, portanto, uma maior fixação de CO₂ e produtividade de biomassa.

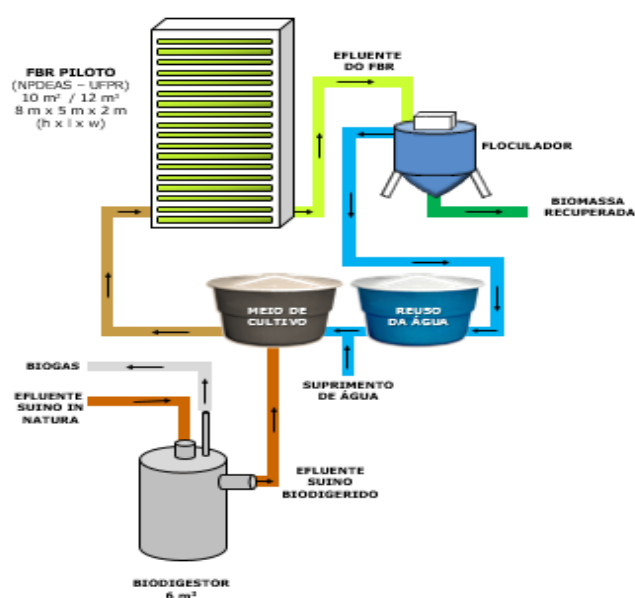


FIGURA 4-8 - CULTIVO DE MICROALGA NO FBR

FONTE: MARIANO (2014)

O cultivo com o FBR completo foi desenvolvido durante 17 dias, tendo-se precedido de um scale up do inóculo que começou na sala de cultivo, passando por sucessivos aumentos de escala, desde os reatores airlift de 11 L a galões de 20 L ainda na sala de cultivo, até a piscina de 2000 L com volume útil de trabalho de 1500 L no pátio do NPDEAS (FIGURA 4-9), em meio de efluente suíno biodigerido, sob condições ambientais para se chegar a 20 % de inóculo no cultivo com 5% de efluente suíno biodigerido. A inoculação do fotobiorreator se deu de modo sequencial, inicialmente foram inoculados apenas quatro dos quatorze ramais, posicionados nas extremidades e totalizando um volume operacional de cerca de 4 m³ com o volume da caixa d'água. Após 10 dias foram abertos os 10 ramais

remanescentes acrescidos 5% (v/v) de efluente suíno biodigerido totalizando o volume operacional de 12 m³.



FIGURA 4-9 - SCALE UP INÓCULO DO FBR
FONTE: NPDEAS (2014)

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para uma melhor organização da etapa final deste trabalho, o fluxograma da FIGURA 5-1 foi proposto com o intuito de nortear à compreensão dos principais resultados obtidos.

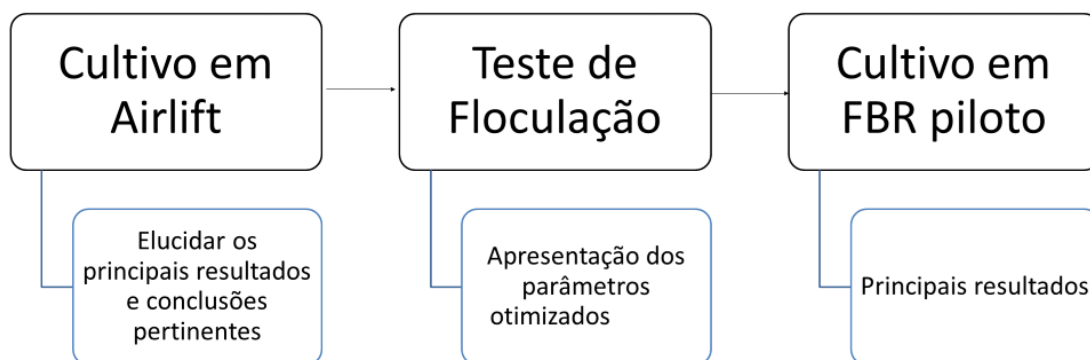


FIGURA 5-1 - FLUXOGRAMA DA APRESENTAÇÃO DE RESULTADOS OBTIDOS NESTE TRABALHO

Fonte: O autor (2015)

Por meio de fluxograma da FIGURA 5-1 teremos inicialmente os resultados obtidos durante o cultivo nos ALs, através dos quais serão apresentadas todas as discussões inerentes ao tipo de metabolismo desempenhado pelas microalgas. Os resultados do teste de floculação da biomassa produzida pelo cultivo com dejetos são apresentados na sequência e ao final são apresentados os resultados do *scale up* tanto da floculação quanto do cultivo em fotobiorreator piloto.

5.1 ROTA METABÓLICA E OS PARÂMETROS DA PRODUÇÃO DE MICROALGAS EM AIRLIFTs

5.1.1 Análise visual

Ao final do cultivo os reatores apresentaram variação em relação a turbidez do meio, nos quais por inspeção visual e por análise de absorvância nos comprimentos de onda previamente definidos, pareceram mais claros e limpos indicando que a matéria orgânica suspensa no início do cultivo foi parcialmente

consumida para a produção de biomassa para o caso das amostras que utilizaram o efluente suíno. Outra análise visual interessante que pode ser feita nos AL é referente à mudança da coloração que nos ALs expostos a luz ficou mais intensa devido ao aumento do teor de clorofila no meio de cultivo, resultado do metabolismo celular.

O aumento da clorofila e consequentemente o aumento da atividade metabólica nos ALs expostos a luz solar foi confirmado por meio da leitura da absorbância em 540 nm, por meio da qual se pôde observar uma variação significativa ao longo dos 18 dias (Tabela 5-1). Para o caso dos cultivos no escuro houve redução da absorbância neste comprimento de onda devido a ausência da atividade fotossintética como é esperado.

TABELA 5-1 VARIAÇÃO DA ABSORBÂNCIA AO LONGO DO CULTIVO

Leitura (540nm)	Abs _{ent}	Abs _{sai}	Fator de aumento
CHU	0.592	3.316	5.6
CHU+GLC	0.669	5.334	8.0
A/L	2.548	9.305	3.7
A/E	2.548	1.359	-0.5
NA/L	1.711	7.077	4.1
NA/E	1.711	0.619	-0.4

Fonte: O autor (2015)

Controle – CHU; Controle suplementado - CHU+GLC Autoclavado na luz -A/L; Autoclavado no escuro -A/E; Não autoclavado na luz-NA/L; Não autoclavado no escuro (NA/E)

Na FIGURA 5-2 estão representados os períodos de cultivo equivalentes ao início e fim para se ter uma noção da mudança física do meio:

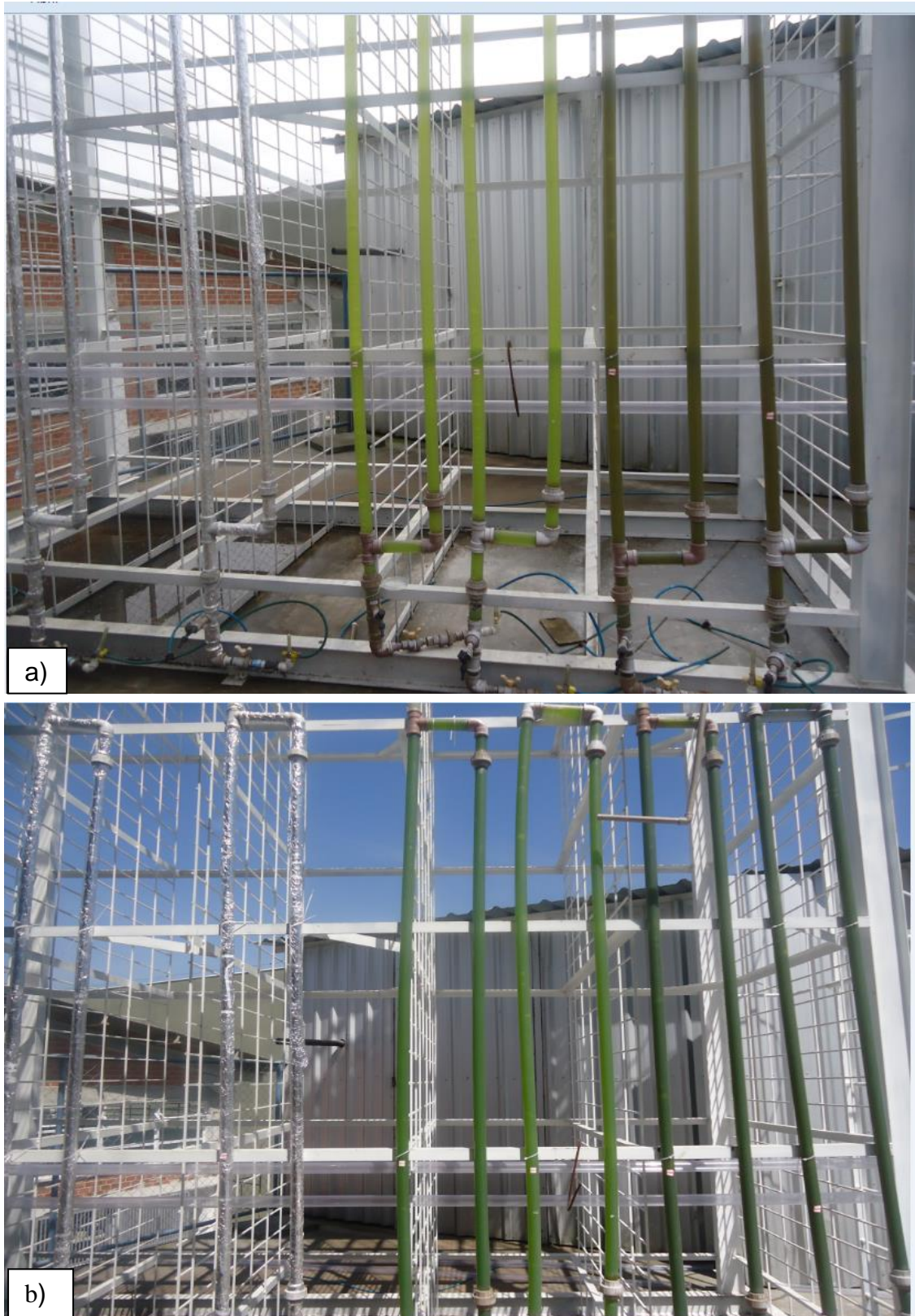


FIGURA 5-2 - ASPECTO VISUAL DO CRESCIMENTO CELULAR: (a) INÍCIO DE CULTIVO; (b) FINAL DE CULTIVO

FONTE: O Autor (2014)

5.1.2 Desempenho em termos de concentração celular ($[X_{(j)}]$) e biomassa ($X_{(j)}$)

O aspecto visual por si não é conclusivo de atividade metabólica da microalga, sendo assim, com as figuras apresentadas a seguir será evidenciado a atividade microbiana desempenhada pela *Scenedesmus* sp., estes dados são relativos ao crescimento celular ($[X_{(j)}]$) e à biomassa seca ($X_{(j)}$) (mg.L^{-1}).

Nas figuras estão apresentados os valores de crescimento celular ao longo do período de cultivo em questão. Verificam-se rendimentos celulares maiores para o cultivo com o meio autoclavado na luz, onde foi observada uma concentração celular máxima de $7,00 \times 10^7$ células. mL^{-1} e o pior desempenho foi observado no cultivo com o meio não autoclavado no escuro, onde se verificou a concentração máxima de $4,46 \times 10^6$ células. mL^{-1} .

Para uma análise mais detalhada e realista, a seguir apresentam-se os gráficos comparativos separados aos pares de condições distintas.

A análise comparativa inicialmente elaborada se refere aos cultivos com os meios CHU e CHU+GLC (FIGURA 5-3), que apresentam um comportamento igual no início de cultivo durante os 3 primeiros dias, em termos de número de células, o que denota a fase lag nas quais os microrganismos se encontram em fase de adaptação ao meio de cultivo e portanto, se dividem mais lentamente.

Este comportamento é corroborado pelo gráfico da biomassa, onde se verifica que a partir do segundo dia já ocorre uma diferença significativa de produção de biomassa favorável ao meio CHU+GLC, o que denota uma adaptação da microalga à glucose suplementada, ou seja, neste período a microalga tem atividade metabólica e ao invés de crescer e se dividir ela apenas engorda enquanto prepara o seu maquinário responsável por efetuar a divisão celular.

O crescimento celular começa no quarto dia e se estende até ao nono dia de cultivo e declina levemente do décimo ao 15º dia, e coincide com igual declínio da biomassa nesse período, atingindo o seu máximo de concentração no 16º dia e de biomassa no 18º dia. Ao final de cultivo se verificou uma produção 1,49 e 1,39 vezes mais células e biomassa seca, respectivamente, no meio CHU+GLC em relação ao cultivo controle (CHU). A partir do teste t de Student foi possível verificar que houve diferenças significativas entre os cultivos ao longo do intervalo de análise tanto em nível de concentração celular quanto de biomassa seca produzida devido a

suplementação de 1 g/L de glucose no meio de cultivo, isto implica na existência de uma atividade metabólica com consumo de glucose, portanto, atividade mixotrófica no meio de cultivo CHU+GLC e que esta glucose é consumida para a manutenção celular e acúmulo de biomassa, tal como observado na literatura científica (Mata *et al.*, 2012), no qual foi cultivada a microalga *Scenedesmus obliquus* em efluente de cervejaria e teve uma remoção de 57,5% em COD durante 13 dias de cultivo.

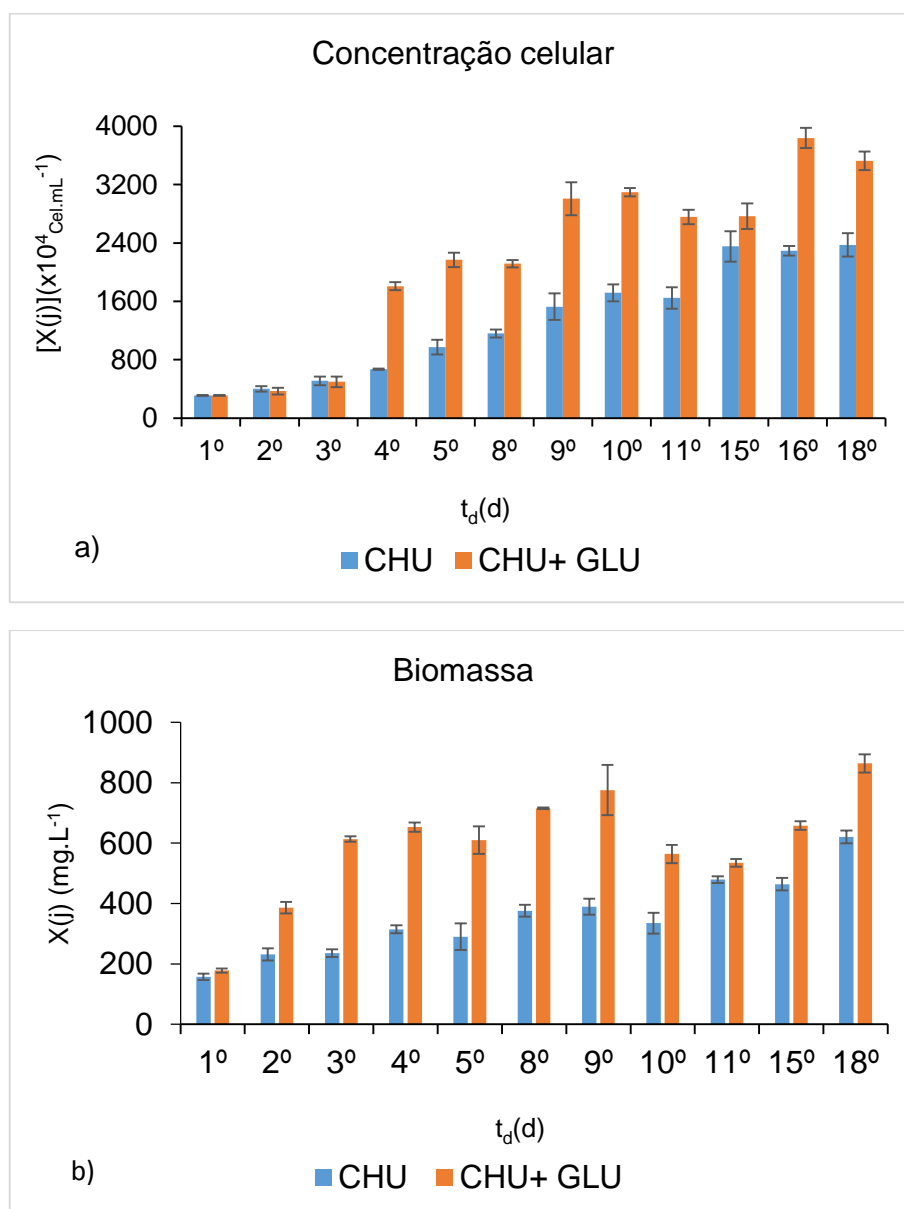


FIGURA 5-3 - DESEMPENHO CELULAR (a) E DE BIOMASSA (b) PARA MEIOS CHU E CHU+GLC
Controle – CHU; Controle suplementado - CHU+GLC

Os resultados apresentados na FIGURA 5-4 são referentes ao crescimento celular e da produção da biomassa da microalga durante o cultivo em efluente suíno não autoclavado e em meio CHU.

A análise comparativa entre os meios CHU e NA/L não mostra diferença estatística significativa na concentração celular ao final do cultivo, porém, em termos de biomassa verifica-se uma diferença significativa nesta etapa, embora o NA/L tenha iniciado com o dobro do valor de biomassa (contendo células e particulados do efluente) em relação ao CHU, visto que ao final do cultivo as células de microalgas do NA/L foram muito maiores que àquelas observadas no CHU.

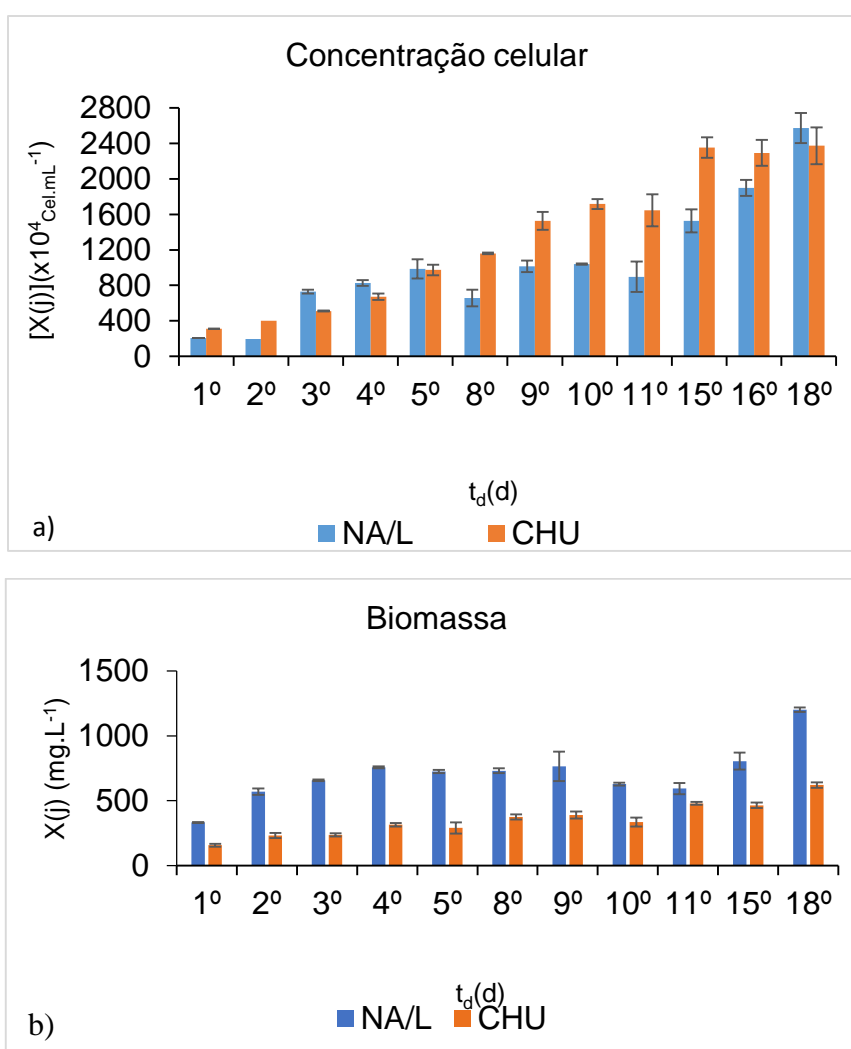


FIGURA 5-4 - DESEMPENHO CELULAR (a) E BIOMASSA (b) PARA MEIOS CHU E LUZ NÃO AUTOCLAVADA

Controle – CHU; Não autoclavado na luz-NA/L;

Uma análise temporal detalhada destes gráficos permite inferir que durante os dois primeiros dias ambos os cultivos, embora estejam metabolicamente ativos, ainda se encontram em fase de adaptação aos seus meios de cultivo e com isto se multiplicam muito pouco e dão preferências ao ganho de peso para depois se dividirem, tal como é observado no terceiro dia de cultivo. Do terceiro ao décimo primeiro dia se observa uma relativa estabilidade na multiplicação celular do NA/L e um aumento tangencial no crescimento do CHU, e uma estabilidade da biomassa celular para ambos. Nos quatro últimos dias de cultivo se verifica um incremento na biomassa final de ambos e se chega a produção mássica de 1200 mg/L para NA/L e 620 mg/L para CHU. Uma possibilidade para se explicar este fenômeno reside na concentração de fósforo presente no CHU que está em excesso e disponível no CHU, permitindo uma maior divisão celular e como consequência produzindo células menores que aquelas encontradas no NA/L, onde o fósforo está em menor concentração e, portanto, tem células maiores e mais gordas.

De forma sequencial é elaborado em seguida uma análise comparativa do controle com o efluente suíno biodigerido autoclavado (FIGURA 5-5).

Uma análise temporal detalhada destes gráficos permite perceber um aumento gradual no número de células e na biomassa do A/L durante os 10 (dez) primeiros dias de cultivo, o que evidencia uma adaptação das células às condições de cultivo apresentadas pelo meio autoclavado e, portanto, priorizam o ganho de peso, e não a divisão celular. Do décimo ao último dia se observa um crescimento acentuado no número de células e um aumento tangencial na biomassa do A/L, chegando ao pico da sua produção. No mesmo período, se verifica um incremento na biomassa final e no número de células do controle. A razão para este fenômeno pode ser encontrada também na concentração do fósforo presente no A/L, que tem concentrações no meio similares àsquelas presentes no controle e dessa forma, a presença da fonte de carbono e os nutrientes proporcionam uma maior produtividade.

Comparando o desempenho celular entre o controle e o meio autoclavado na luz foi verificada uma diferença significativa em termos de concentração celular e biomassa ao longo do cultivo. Ao final de cultivo se verifica uma produção de 3,04 e 2,42 vezes mais células e biomassa seca no meio autoclavado em relação ao cultivo

controle (CHU), respectivamente, devido a presença de nutrientes e matéria orgânica que se apresentam como essenciais ao cultivo.

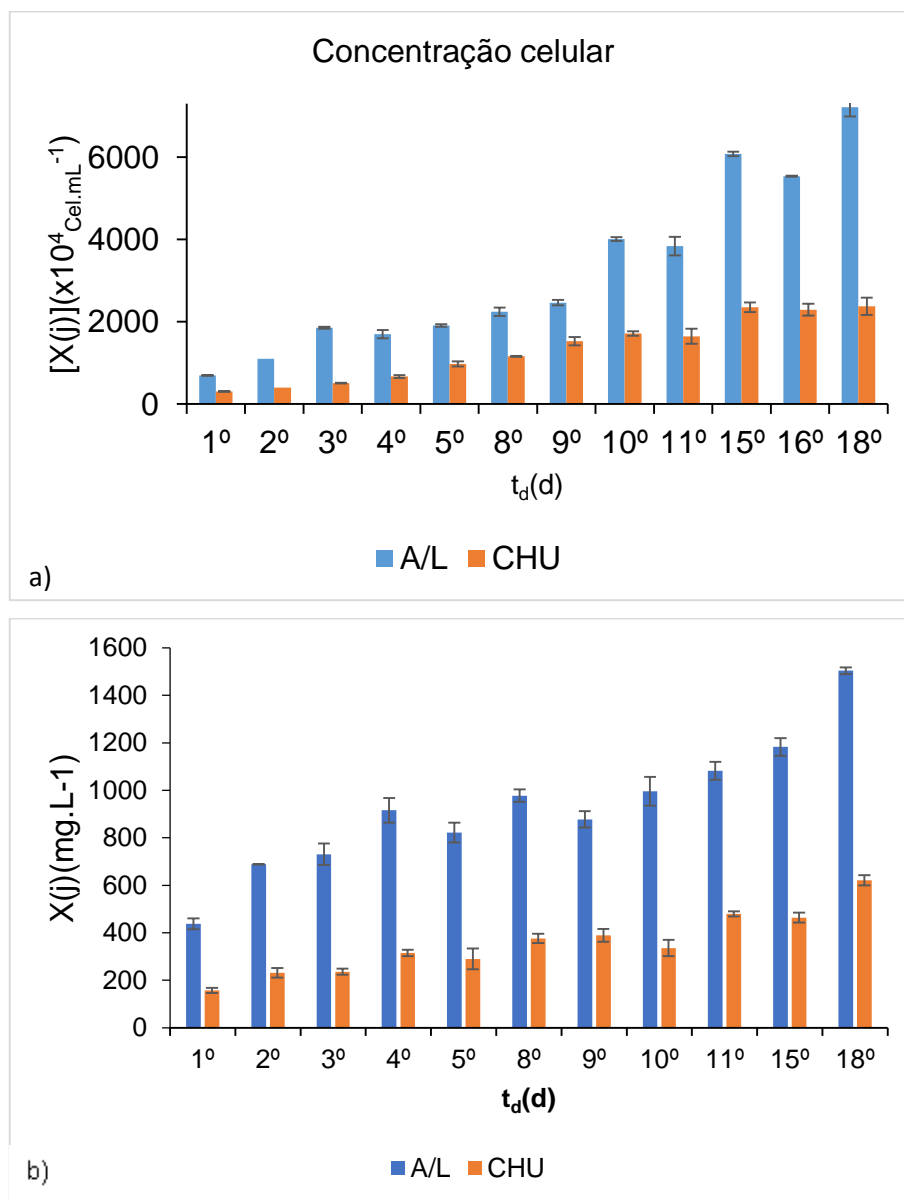


FIGURA 5-5 - DESEMPENHO CELULAR (a) E DE BIOMASSA (b) PARA MEIOS CHU E LUZ AUTOCLAVADA

Controle – CHU; Autoclavado na luz -A/L

Analogamente, foram avaliados em pares os resultados obtidos durante os cultivos com os meios alternativos propostos na luz, A/L e NA/L (FIGURA 5-6). Embora já tenham sido analisados individualmente com o controle, estes dois experimentos, que produziram $7,21 \times 10^7$ cels/mL e 1504 mg/L, $2,57 \times 10^7$ cels/mL e 1200 mg/L para A/L e NA/L, respectivamente, devem ser analisados entre si para se extrair algumas

ilações importantes a respeito da disponibilidade de nutrientes com o tratamento térmico.

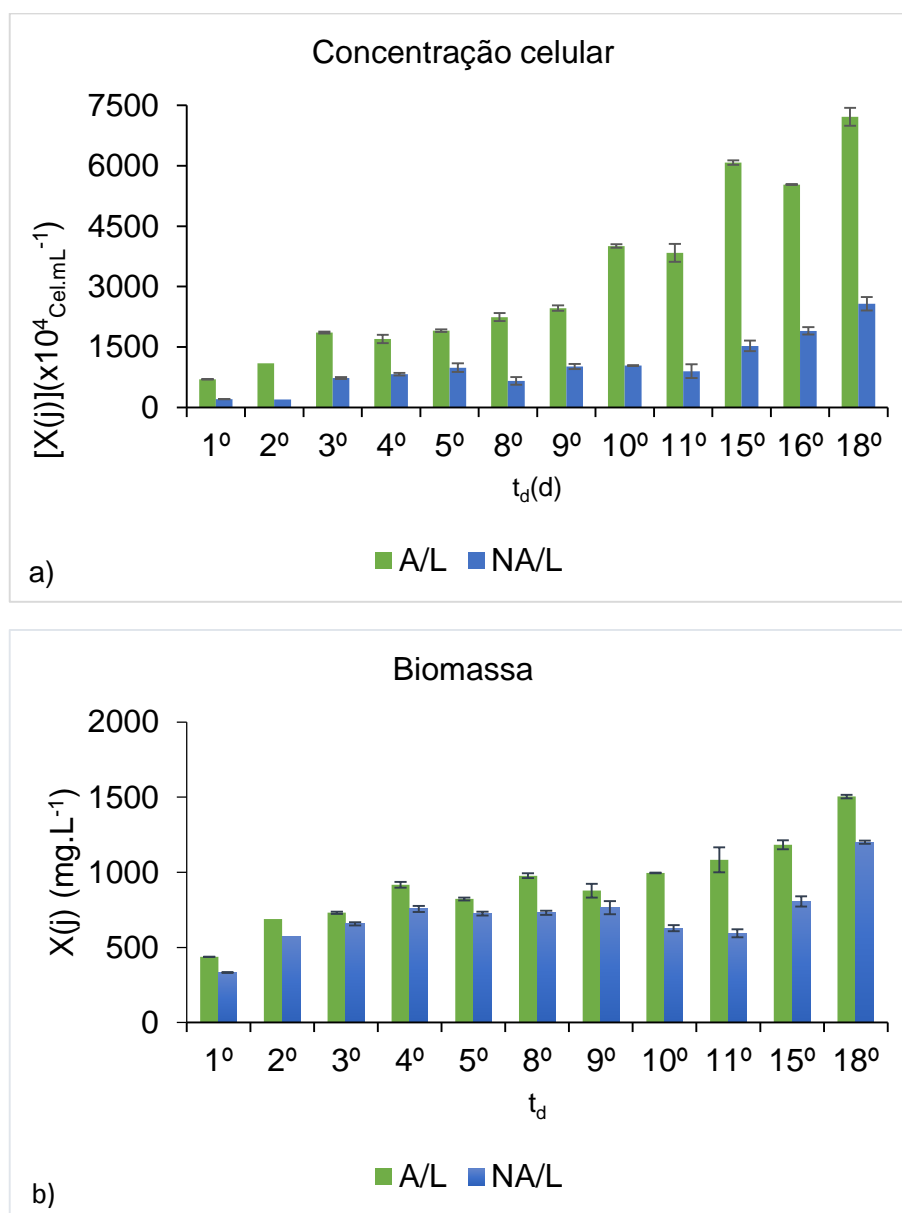


FIGURA 5-6 - DESEMPENHO CELULAR (a) E BIOMASSA (b) PARA MEIOS LUZ AUTOCLAVADA E NÃO AUTOCLAVADA

Autoclavado na luz -A/L; Não autoclavado na luz-NA/L;

A concentração inicial de células no NA/L foi quase o terço daquela observada no A/L e a biomassa inicial foi similar, no entanto, dada a diferença significativa existente em termos de biomassa, exceto no nono dia, é possível afirmar que o tratamento térmico, cujo objetivo inicial era de se retirar microrganismos contaminantes, teve um papel essencial na biodisponibilidade de nutrientes e matéria orgânica para a microalga. Esta hipótese se centra no fato de

que durante a evolução do processo biodigestão, a microbiota local do biodigestor prioriza a produção de nutrientes, matéria orgânica simples e prontamente disponíveis para as microalgas (Sakuma, 2013), tais como o CO₂ solubilizado. No entanto, nem toda matéria orgânica e nutrientes serão metabolizados e/ou biotransformados e acabam saindo como compostos complexos na forma de amido e celulose e outros compostos facilmente quebráveis no tratamento térmico em autoclave a 1,5 bar e 125 °C, tais como proteínas e carboidratos, e por consequência ter-se-á, muitos nutrientes prontamente disponíveis para o metabolismo da microalga.

Ao se efetuar o tratamento térmico em autoclave efetua-se biodisponibilização de carboidratos e nutrientes, principalmente o fósforo, para o metabolismo microalgal. Este fenômeno justifica a quantidade de células e de biomassa produzidas no A/L mesmo tendo-se partido do mesmo meio de cultivo para o desenvolvimento do experimento.

Outra questão verificada no NA/L e que não pode ser descartada é presença de alguns microrganismos oportunistas (bactérias e protozoários ciliados) que competiam pelo substrato e nutrientes, o que reduziria as quantidades destes no meio de cultivo e desta certa forma justificaria a pouca divisão celular observada.

Também foram comparados os resultados do cultivo entre CHU e os cultivos no escuro (FIGURA 5-8), e concluiu-se que mesmo tendo começado o cultivo com condições iguais aos seus pares na luz, o A/E e o NA/E não apresentaram crescimento celular real, nem rendimentos da biomassa quando comparados entre si e com o controle.

Seus valores finais de biomassa foram menores do que no início do cultivo, o que denota que a morte celular pela respiração endógena no período foi maior que o crescimento. Nestes experimentos foram encontrados muitos microrganismos oportunistas (bactérias e protozoários ciliados) no NA/E e poucos contaminantes no A/E, evidenciando a competição pela fonte de carbono e nutrientes por estes organismos e pela ausência de atividade estritamente quimioheterotrófica pela microalga.

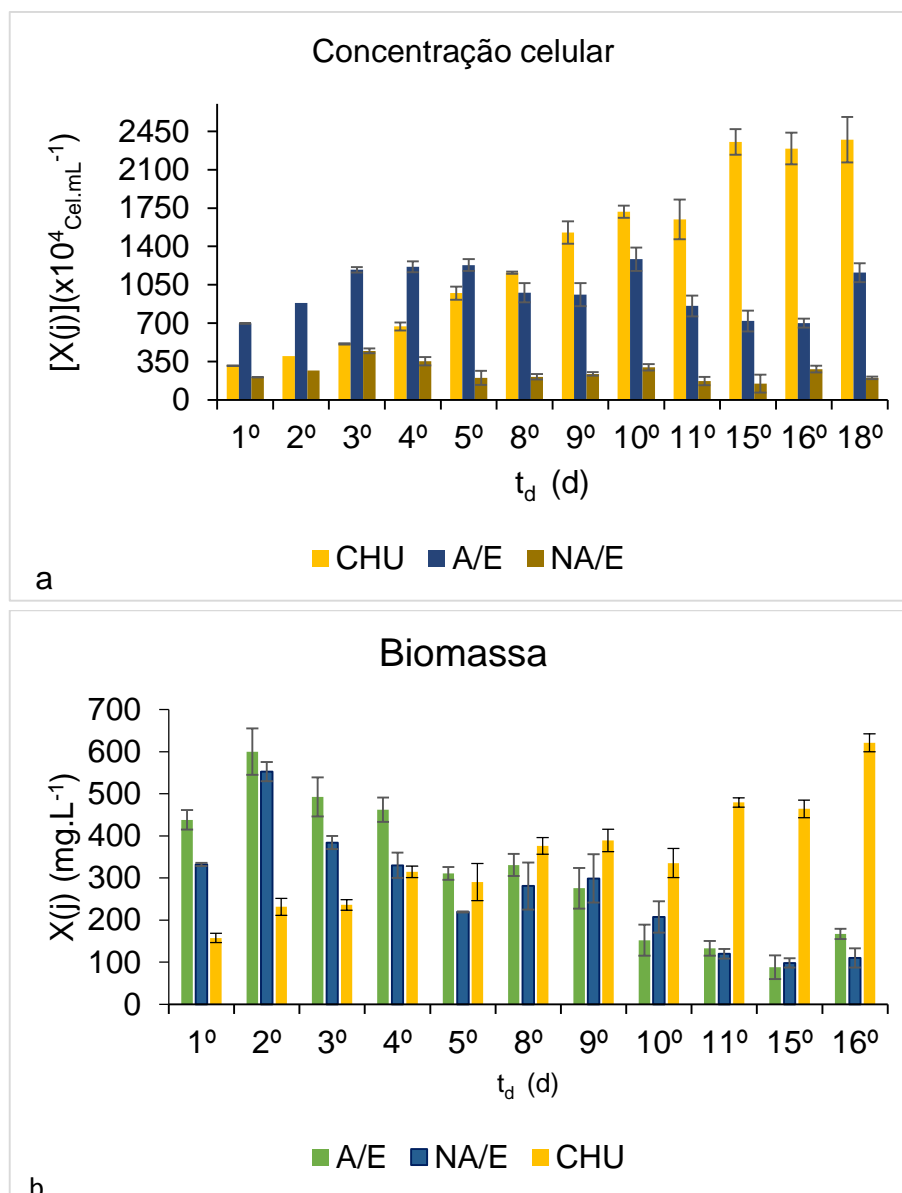


FIGURA 5-7 - DESEMPENHO CELULAR (a) E BIOMASSA (b) PARA MEIOS NO ESCURO E CHU
Controle – CHU; Autoclavado no escuro -A/E; Não autoclavado no escuro (NA/E)

5.1.3 Variação do pH

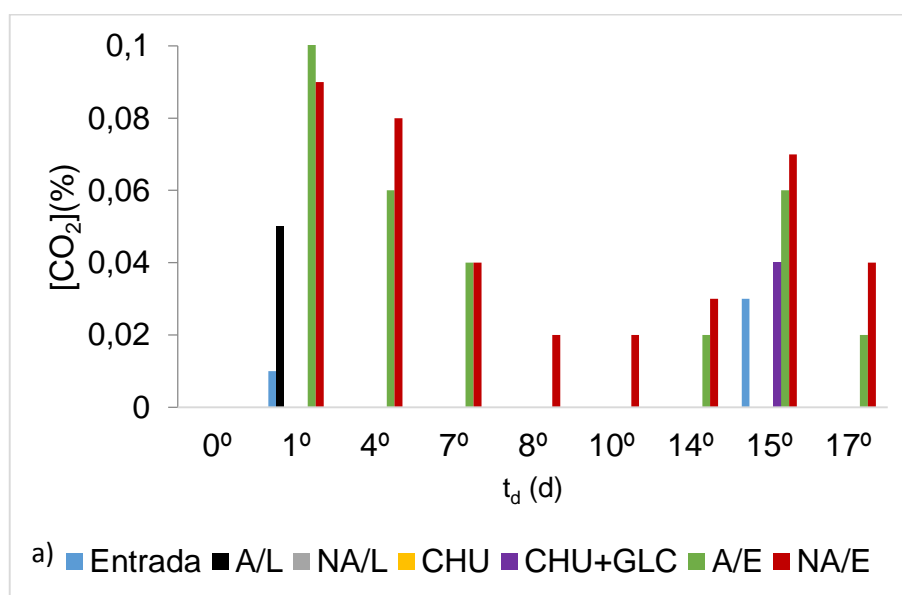
Ao longo dos cultivos os valores referentes ao pH tiveram comportamentos distintos em relação a presença ou não de luz. Os cultivos com efluente suino na luz tanto o autoclavado quanto o não autoclavado tiveram basicamente um aumento de 2 (duas) unidades do pH, saindo de pH 9,0 para o pH 11,0. Os cultivos CHU e CHU+GLC, tiveram um aumento de aproximadamente 4 (quatro) unidades de pH, variando de pH 7,2 para pH 11,2. O cultivo A/E teve redução de 1 (uma) unidade e o NA/E praticamente manteve o pH ao longo do experimento. A não acidificação dos

cultivos sob a ação da luz solar se deve à atividade fotossintética, por meio da qual tanto o CO_2 quanto os prótons são removidos do meio de cultivo pelo ciclo de Calvin-Benson para produção de energia na forma de NADPH_2 e ATP e compostos orgânicos constituintes de organelas celulares. Entretanto, para os cultivos no escuro se verifica um fenômeno contrário àquele observado na luz, ou seja, o meio sofre acidificação devido à inatividade do aparato fotossintético e a respiração endógena que libera prótons e CO_2 para o meio de cultivo.

5.1.4 Depuração de gases do ar comprimido

Também foi verificado a hipótese de mixotrofia através do comportamento dos gases ao longo do cultivo e da variação do pH nos quais se percebe o consumo do CO_2 e a manutenção ou incremento do O_2 nos sistemas iluminados e o contrário nos sistemas no escuro.

A análise dos gases do ar comprimido durante o período de cultivo das microalgas nos ALs levou em conta CO , SO_2 , O_2 , NO_2 , NO , C_xH_y , H_2S , CO_2 e NO_x e os seus valores tiveram alguma oscilação e nalguns casos se anularam. Entretanto, para se corroborar um dos objetivos a que este estudo se propôs, o aspecto mixotrófico, foram selecionados os gases O_2 e o CO_2 (*FIGURA 5-8*), isto porque durante o metabolismo heterotrófico ocorre a liberação de maior quantidade de gás carbônico em relação a sua entrada nos fotobiorreatores.



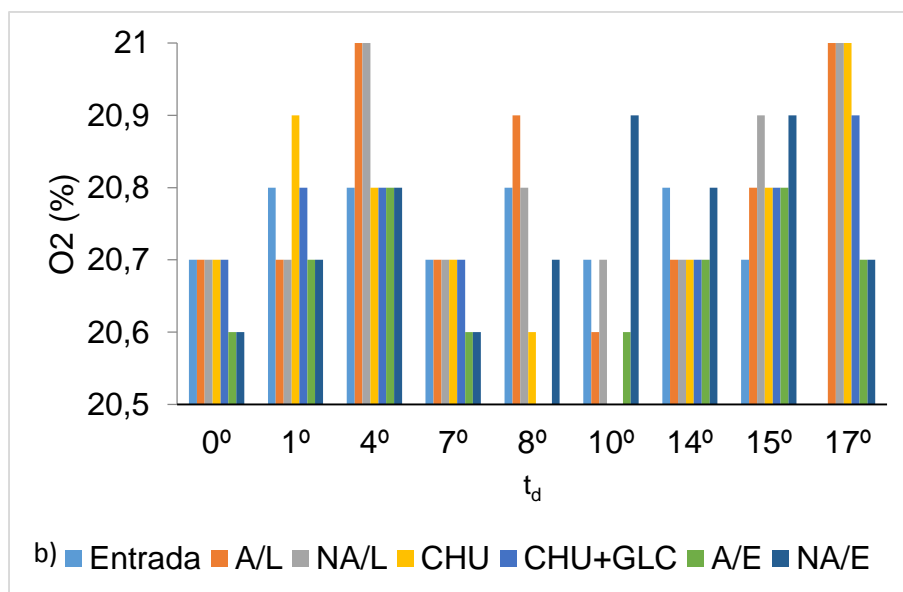


FIGURA 5-8 - ANÁLISE DE CO₂ (a) E O₂ (b) NO CULTIVO

Controle – CHU; Controle suplementado - CHU+GLC Autoclavado na luz -A/L; Autoclavado no escuro -A/E; Não autoclavado na luz-NA/L; Não autoclavado no escuro (NA/E)

A análise dos gráficos mostra um perfil de dependência de proporcionalidade inversa dos cultivos pelas duas variáveis em questão, o CO₂ (a) e O₂ (b), ou seja, o aumento dos teores de O₂ estão diretamente ligados a redução dos níveis de CO₂ e num cultivo mixotrófico os níveis de CO₂ e O₂ alternam entre si de acordo com a demanda instantânea da microalga, porém, prevalece para este caso em específico, onde o consumo de CO₂ nos cultivos é maior porque a concentração deste gás no meio fornecido pelo ar atmosférico é muito menor ou inexistente sendo consumido em taxas maiores em relação ao oxigênio que está em excesso, e portanto este último acaba sendo mantido em níveis praticamente iguais aqueles da entrada nos reatores. Os níveis de CO₂ nos cultivos no escuro aumentaram devido atividade metabólica dos microrganismos contaminantes e pela respiração endógena das microalgas e a ausência da atividade quimioheterotrófica da microalga observada no escuro pode ser explicada além dos contaminantes, pela incapacidade das microalgas de ativarem o mecanismo metabólico na ausência de fonte luminosa para a síntese de NADPH₂ e ATP essenciais para a síntese das organelas celulares.

5.2 CARACTERISAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA

5.2.1 Depuração de matéria orgânica

Aliado a produção da biomassa, o presente estudo também se preocupou em apurar os parâmetros ambientais envolvidos no crescimento da biomassa de microalgas com efluente suíno biodigerido. Desta forma foi analisado o comportamento do carbono orgânico durante o cultivo (FIGURA 5-9 e TABELA 5-2). Foi determinada a concentração do COD presente em uma solução padrão de 1 g/L de glucose para efeitos comparativos da quantificação da matéria orgânica no cultivo com efluente. Verificou-se que a concentração de 2,5 % (v/v) de efluente suíno biodigerido fornece para o meio de cultivo autoclavado aproximadamente a mesma concentração de COD observada na solução padrão, enquanto que para o não autoclavado esse valor é de cerca de 90% da solução padrão.

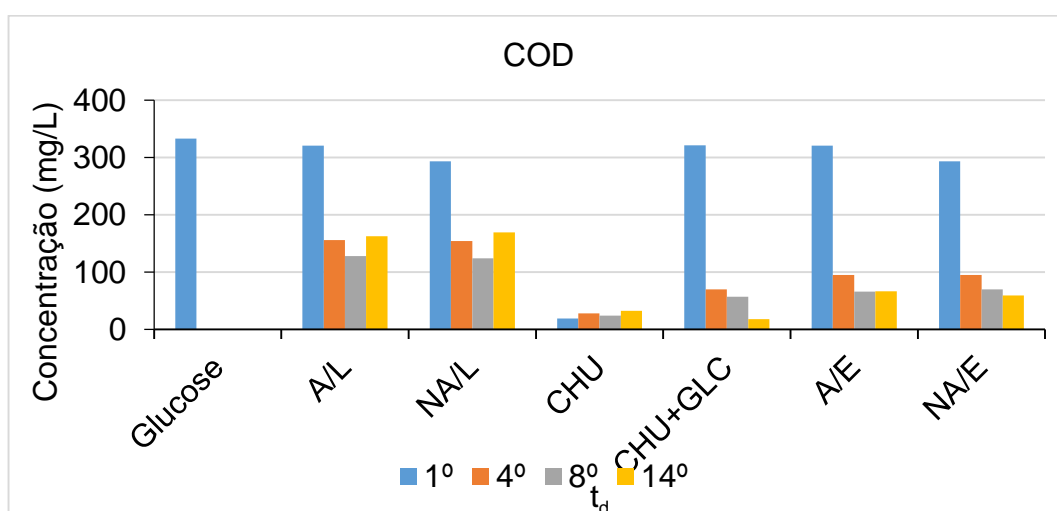


FIGURA 5-9 - DEPURAÇÃO DO COD NOS CULTIVOS

Controle – CHU; Controle suplementado - CHU+GLC Autoclavado na luz -A/L; Autoclavado no escuro -A/E; Não autoclavado na luz-NA/L; Não autoclavado no escuro (NA/E)

Neste gráfico verifica-se a redução dos valores de COD ao longo do cultivo. A concentração inicial do COD para todos a exceção do cultivo com o meio CHU foi superior a 320 mg/L e a maior remoção foi observada no cultivo com meio suplementado com glucose, onde 94,6% do COD foi removido, e o pior desempenho foi verificado no meio de cultivo com meio não autoclavado na luz (Tabela 5-2).

TABELA 5-2 - EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO DE COD NOS CULTIVOS

Amostra (mg.L ⁻¹)	COD ent	COD saída	Eficiência (%)
Glucose (1g/L)	333,07		
CHU	18,70	32,15	-71,87
CHU+GLC	321,52	17,48	94,56
A/L	320,71	162,32	49,39
A/E	320,71	66,27	79,34
NA/L	293,23	169,15	42,31
NA/E	293,23	59,34	79,76

FONTE: O Autor (2014)

Controle – CHU; Controle suplementado - CHU+GLC Autoclavado na luz -A/L; Autoclavado no escuro -A/E; Não autoclavado na luz-NA/L; Não autoclavado no escuro (NA/E)

Este comportamento pode ser explicado da seguinte forma:

O meio de cultivo CHU+GLC possui glucose que é um carboidrato simples e de fácil captação pela microalga, portanto, se está solubilizado no meio será facilmente metabolizado pelas células e considerando que a microalga não atingiu a fase estacionária não teremos muitas células morrendo e liberando COD no meio;

Para o cultivo na luz com os meios autoclavado e não autoclavado verifica-se uma redução global inferior a 50% e não os 94% reais encontrados no CHU+GLU porque o COD aqui representado não evidencia qual é a matéria orgânica realmente avaliada, podendo ser um composto orgânico mais complexo, tal como o amido da ração suína, e o meio autoclavado tem vantagem por conta do tratamento térmico sofrido pelo efluente suíno biodigerido. Se for considerada a redução real observada até o oitavo dia, conclui-se que tanto A/L quanto NA/L tiveram reduções superiores a 55% e que os valores da última leitura se devem a presença de metabólitos secundários excretados e os debrís celulares resultantes da morte celular no meio de cultivo.

Mesmo não tendo sido incrementada com COD, o cultivo controle apresentou um aumento na concentração do COD, provavelmente devido a solubilização do CO₂, aos metabólitos secundários excretados pela alga e em certa parcela pela morte celular. Embora não se tenha observado a produção de biomassa no escuro, foram verificados índices de remoção de COD próximos a 79%, o que

comprova a presença no sistema de microrganismos oportunistas que se adaptaram facilmente às condições do reator no escuro.

5.2.2 Nitrogênio e Fósforo

As leituras de consumo de nutrientes evidenciaram as premissas de maiores disponibilidades nutricionais nos experimentos com dejetos tratados termicamente como se pode observar nas Tabelas 5-3 e 5-4;

Verificam-se aqui remoções de nutrientes superiores a 50% nos cultivos na luz com efluente suíno, o que é um indício aceitável de biorremediação de nitrogênio e fósforo no meio de cultivo para a produção de biomassa de microalgas. Para o caso dos cultivos no escuro verificam-se aumentos nas concentrações de fósforo devido a morte celular no meio.

TABELA 5-3 - EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO DE NITROGÊNIO NOS CULTIVOS

Amostra	N-N _{td.ent} (mg/L)	N-N _{td.saida} (mg/L)	Eficiência
CHU	12,63	9,327	26,18
CHU+GLC	12,63	9,690	23,30
A/L	28,33	14,145	50,08
A/E	28,33	17,14	52,47
NA/L	24,60	11,69	39,49
NA/E	24,60	7,509	69,47

FONTE: O autor (2015)

TABELA 5-4 - EFICIÊNCIAS DE REMOÇÃO DE FÓSFORO NOS CULTIVOS

Amostra	P-P _{td.ent} (mg/L)	P-P _{td.saida} (mg/L)	Eficiência
CHU	5,952	1,037	82,58
CHU+GLC	5,952	2,738	53,99
NA/L	1,383	0,68	50,84
NA/E	1,383	4,715	-240,84
A/L	5,722	0,813	85,79
A/E	5,722	7,358	-28,60

FONTE: O autor (2015)

5.3 RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA

5.3.1 Ajuste do tempo de mistura (Y₁) e velocidade de agitação (Y₂)

A primeira etapa da determinação das condições de floculação envolve o conhecimento do tempo de mistura e da velocidade de agitação por meio da qual os flocos serão formados e sedimentados. Neste trabalho o efeito do tempo de mistura (Y₁) e da velocidade de agitação (Y₂) na eficiência de floculação foi analisada estatisticamente usando a metodologia da superfície de resposta e os valores desta eficiência são apresentados na tabela 5-6 e foram calculadas usando a equação 5-1

$$\eta_f(\%) = \left(1 - \frac{B}{A}\right) \times 100 \quad (5-1)$$

TABELA 5-5 - RESULTADOS DA EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS USANDO A PRIMEIRA CCD

Exp.	MT(Y ₁) (min)	AS (Y ₂) (rpm)	η _f observada (%)	η _f predita (%)
1	6.8 (-1)	50 (-1)	92.6 ± 1.0	89.4
2	6.8 (-1)	250 (+1)	78.0 ± 1.5	79.4
3	18.4 (+1)	50 (-1)	88.1 ± 1.6	89.4
4	18.4 (+1)	250 (+1)	80.2 ± 2.1	79.4
5	5.0(-α)	150 (0)	86.1 ± 1.3	88.4
6	19.2 (+α)	150 (0)	89.9 ± 1.4	88.4
7	12.6 (0)	35 (-α)	94.2 ± 0.9	95.6
8	12.6 (0)	265 (+α)	85.0 ± 0.8	84.2
9	12.6 (0)	150 (0)	98.3 ± 0.2	98.2
10	12.6 (0)	150 (0)	98.4 ± 0.3	98.2
11	12.6 (0)	150 (0)	98.4 ± 0.2	98.2

MT- tempo de mistura; AS- Velocidade de agitação; Y₁- variável codificada para tempo de mistura; Y₂- Variável codificada para velocidade de agitação.

FONTE: O autor (2015)

De acordo com a tabela verifica-se que a eficiência variou de 78,0±1,5% até 98,4±0,3% e que quando se usa altas velocidades de agitação (>220 rpm) reduz-se a eficiência devido a redispersão e reincorporação dos flocos no meio, ou pela formação de flocos menores que não possuem peso suficiente para sedimentarem.

A combinação da velocidade de agitação lenta com o baixo tempo de mistura proporciona eficiências de floculação melhores. O modelo empírico foi ajustado pela equação 5-2 para o valor de η_f .

$$\eta_f(\%) = 98.212 - 7.473y_1^2 - 4.964y_2 - 6.334y_2^2 \quad (5-2)$$

O valor do R^2 inicialmente de 95,0% foi ajustado para que o modelo conseguisse prever a resposta e explicar 92,8% da variabilidade nos dados. O gráfico 3D da superfície de resposta (FIGURA 5-10) mostrou um valor máximo global que reforça o padrão da eficiência de floculação observado experimentalmente.

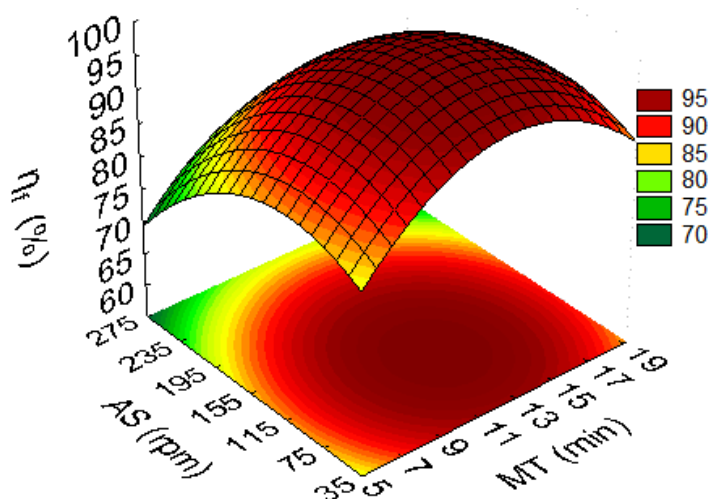


FIGURA 5-10 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA DA EFICIÊNCIA DE FLOCULAÇÃO (η_f)

É possível inferir a partir do gráfico que no intervalo entre 35-220 rpm e de 6,8-19,2 min de agitação ocorre pouca variação sobre a eficiência, o que é benéfico visto que permite economia de energia no processo. Estes dados são condizentes com a literatura e num estudo de otimização da floculação para a recuperação da biomassa do consórcio microalga e bactéria usando quitosana pela metodologia da superfície de resposta foram observados valores ótimos de AS de 131 rpm e concentração de 214 mg.L⁻¹ (Riaño, Molinuevo e García-González, 2012). Entretanto, reduzindo a AS para 50 rpm e MT para 10 min, o η_f cai levemente para 95,3±1,1%.

A equação 5-2 foi otimizada usando os comandos do Maple 9.5 do programa Statistic 7.0 e permitiu chegar a um MT de 12,6 min e uma AS de 111 rpm, e sob

estas condições a resposta experimental rendeu $99,3 \pm 0,4\%$ de η_f , o que permitiria que toda a microalga fosse adsorvida pelo Tanfloc SG.

5.3.2 Ajuste da concentração do tanfloc (Z_1) e o pH (Z_2)

Uma vez conhecida a condição física ideal para a floculação e recuperação da biomassa de microalgas surge a necessidade de se determinar a concentração e pH adequados para o processo. Portanto, para a verificação do papel da concentração do Tanfloc (Z_1) e o pH (Z_2) na η_f , foi elaborado um estudo para análise estatística usando uma segunda metodologia da superfície de resposta (TABELA 5-7), por meio da qual se verificou que a η_f experimental variou de $5,0 \pm 2,1\%$ a $98,4 \pm 1,0\%$. É possível inferir a partir da análise de pares que a concentração do Tanfloc tem efeito significativo em η_f a medida que o pH diminui e que perto do seu ponto isoelétrico a microalga está mais apta a flocular.

Valores ótimos de η_f foram obtidos no ponto central, com a concentração de floculante de 250 mg.L^{-1} e pH 8,00 e estas observações estão em concordância com os resultados obtidos por (Beltrán Heredia e Sánchez Martín, 2009), que mostraram que o pH é um parâmetro muito importante de floculação e que a sua faixa ótima varia entre 6-8. Esta importância se deve ao fato de que o pH do meio de cultivo ter um impacto na interação dos agentes floculantes com os grupos carregados (aminas, carboxilas e fosfatos) presentes na superfície das células da biomassa.

O modelo empírico foi ajustado pela equação 5-3 para o valor de η_f . O valor do R^2 inicialmente de 95,4%, foi ajustado para que o modelo consiga prever a resposta e explicar 92,5% da variabilidade nos dados.

$$\eta_f(\%) = 99.054 - 14.573Z_1^2 - 32.091Z_2 - 35.834Z_2^2 + 13.675X_1Z_2 \quad 5-3$$

Os coeficientes permitem inferir a representatividade boa dos resultados experimentais pela equação. Pela equação 5-3, o pH tem ampla influência por causa da dimensão dos seus coeficientes. Verifica-se que com baixos valores de pH e concentração de Tanfloc SG promoveu um aumento nos valores de η_f .

TABELA 5-6 - RESULTADO DE η_f SOB DIFERENTES CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS DE ACORDO COM A SEGUNDA MATRIZ CCD

Exp.	TC (Z_1) (mg.L ⁻¹)	pH (Z_2)	η_f observada (%)	η_f Predita (%)
1	100 (-1)	5 (-1)	92.6 \pm 1.6	89.4
2	100 (-1)	11 (+1)	5.0 \pm 2.1	0.0
3	400 (+1)	5 (-1)	63.0 \pm 2.0	72.1
4	400 (+1)	11 (+1)	30.1 \pm 4.5	35.2
5	78 (- α)	8 (0)	64.8 \pm 2.0	74.1
6	422 (+ α)	8 (0)	97.8 \pm 1.1	85.6
7	250 (0)	4.6 (- α)	93.6 \pm 1.7	88.7
8	250 (0)	11.5 (+ α)	13.1 \pm 4.0	15.1
9	250 (0)	8 (0)	98.3 \pm 1.0	99.0
10	250 (0)	8 (0)	98.4 \pm 1.0	99.0
11	250 (0)	8 (0)	98.4 \pm 1.0	99.0

FONTE: NPDEAS (2015)

O gráfico 3D da superfície de resposta (FIGURA 5-11) mostrou um valor máximo global que reforça o padrão da eficiência de floculação observado experimentalmente. Por ser dependente da concentração do agente floculante, η_f sempre aumenta com o aumento deste até um ótimo e depois diminui (Kim *et al.*, 2011).

A equação 5-2 foi otimizada usando os comandos do Maple 9.5 e permitiu chegar a uma concentração de Tanfloc SG e pH de 215 mg.L⁻¹ e 6.5, respectivamente. Entretanto, devido a necessidade de se minimizar os custos do processo sem comprometer o desempenho do processo, chegou a conclusão pela superfície de contorno que uma concentração de Tanfloc SG e pH de 210 mg.L⁻¹ e 7.8, respectivamente, permitiriam obter uma resposta experimental de e sob estas condições a resposta experimental 97 \pm 1.0% de η_f , o que permitiria que quase toda a microalga fosse adsorvida pelo Tanfloc SG e dessa forma se reduziria o custo de baixar o pH para 6.5.

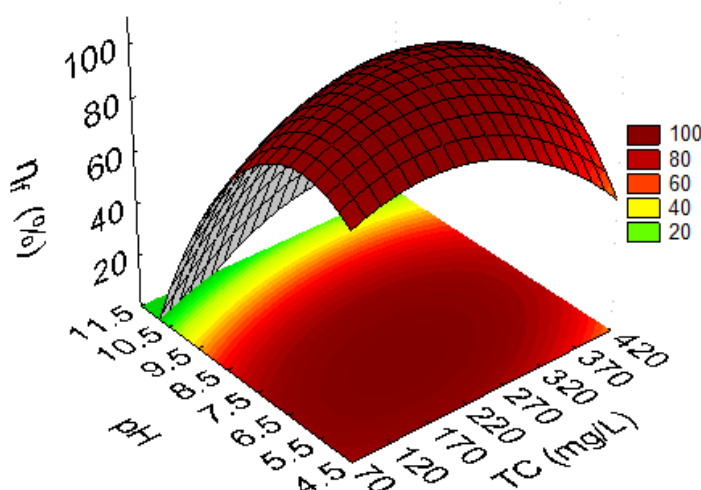


FIGURA 5-11 - SUPERFÍCIE DE RESPOSTA PARA η_f EM FUNÇÃO DO TC E pH

5.3.3 Comparação da eficiência do tanfloc com outros agentes floculantes

O conhecimento das condições ótimas do Tanfloc SG obtidos pelo segundo CCD permitiu efetuar uma comparação com diferentes condições otimizadas de floculação já descritas na literatura científica (Ahmad *et al.*, 2011; Lu Chen, 2013). Nesta etapa do trabalho foi elaborado um experimento de floculação em *jar test* no qual foram comparados com a condição otimizada de floculação com o Tanfloc SG com aquelas otimizadas onde os autores usaram sais metálicos e quitosana e suas concentrações e resultados estão apresentados na tabela 5-7

TABELA 5-7 - ANÁLISE COMPARATIVA DOS AGENTES FLOCULANTES

Exp.	Floculante	Referência	Concentração (mg.L ⁻¹)	pH final	η_f (%)
1	Tanfloc SG	Condição otimizada*	210	7,4	96.7 ± 1.0
2	FeCl ₃	Chen et al [20]**	150	6	96.0 ± 0.8
3	Al ₂ (SO ₄) ₃	Chen et al [20]**	300	4,5	96.5 ± 1.1
4	Ca(OH) ₂	Chen et al [20]**	400	11,5	20.8 ± 3.0
5	Quitosana	Ahmad et al. [19]**	10	5,5	67.5 ± 2.5
6	Quitosana	Ahmad et al. [19]**	25	4,8	97.3 ± 0.6

* - Obtido pelo autor ; ** - Obtido da literatura

FONTE: NPDEAS (2015)

Pela tabela, é possível inferir que o Tanfloc SG, FeCl_3 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, e Quitosana (25 mg.L^{-1}) apresentaram η_f superiores a 96,0%, enquanto o resto não chegou aos 70%. Com base nos resultados os sais metálicos FeCl_3 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ são bons candidatos a agentes floculantes de microalgas se forem considerados apenas η_f e o custo, porém eles são tóxicos para a biomassa e produzem grandes volumes de lodo e necessitam de uma etapa adicional de remoção de metais da biomassa, o que de certa forma acaba encarecendo o produto. Este fato por si só já justificaria a demanda por agentes floculantes não tóxicos para a microalga.

O tratamento com a Quitosana apresentou valores similares de η_f àquele com o Tanfloc SG. Polímeros orgânicos, tais como Quitosana e o Tanfloc SG, são a melhor escolha devido a sua não toxicidade da biomassa e do meio de cultivo, visto que pelas suas propriedades é possível se reutilizar o sobrenadante em um novo processo de produção de microalgas nos FBRs.

Partindo-se das mesmas η_f , para a Quitosana e o Tanfloc SG, e da necessidade de se justificar os objetivos estipulados neste estudo, a análise econômica desta etapa permite de alguma forma avaliar o seu impacto no processo global de produção de biomassa de microalgas. Assim, a Quitosana que tem preço comercial de \$3,80/g (Sigma Aldrich) e o ácido acético, solvente da Quitosana, custando \$9,30/L (Vetec), teriam um custo de \$198,00 para se processar cerca de 2000 L de biomassa de microalgas para ser gerado 1 (um) kg de biomassa de microalga seca recuperada, enquanto que com o Tanfloc SG (210 mg.L^{-1}) que custa \$2.60/kg e tem o preço de HCl, para baixar o pH, negligenciável gastaria cerca de \$1.10/kg biomassa seca recuperada.

Portanto, partindo-se dos dados obtidos em *jar test* com o Tanfloc SG (210 mg/L ; pH 7,8), foram elaborados 5 (cinco) experimentos em larga escala nos quais as amostras de microalgas na concentração de 500 mg/L foram floculadas em um floculador de 1 m^3 , apresentando reprodutibilidade das condições de laboratório e os valores de η_f a 93,0%, justificando-se assim a escolha do Tanfloc SG, para a separação da microalga no laboratório.

5.4 CULTIVO EM FBR TUBULAR INDUSTRIAL

Durante o cultivo foram monitorados os mesmos parâmetros analisados nos testes em Airlift ao longo do cultivo, acrescentando-se as leituras de nitrito, nitrato e

amônia. O fotobiorreator tubular piloto apresentou resultados impactantes, tais como concentração celular superior a $3,00 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ e produção média de biomassa de 790 mg/L, sob condições ambientais de temperatura e luminosidade para a região de Curitiba. Estes resultados de produtividades com efluente suíno biodigeridos são superiores àqueles encontrados durante o cultivo com o meio sintético CHU elaborado pelo grupo (Corrêa, 2013).

Analogamente, o FBR do NPDEAS apresentou taxas de depuração de matéria orgânica e nutrientes excelentes (TABELA 5-8), nas quais se verifica que as taxas de remoção de fósforo total dissolvido foi superior a 90%, a remoção do nitrogênio total dissolvido foi superior a 75%, o nitrogênio amoniacal e o ortofosfato, são consumidas em taxas superiores a 94 %. Este fato é condizente com trabalhos da literatura que afirmam que estes compostos são os preferidos em relação as outras formas de fósforo e nitrogênio amoniacal (Gantar, Obreht e Dalmacija, 1991; Martínez *et al.*, 2000; Andrade e Costa, 2008; Mulbry *et al.*, 2008; Akpor e Muchie, 2010; Vivan *et al.*, 2010; Mata *et al.*, 2012). Salienta-se aqui que o acréscimo nos valores de nitrito e nitrato é negligenciável em relação ao consumo do nitrogênio amoniacal para a produção da biomassa, e que este acréscimo se deve provavelmente a morte celular e consequente liberação de metabólitos secundários no meio de cultivo. Do ponto de vista de matéria orgânica a eficiência é de aproximadamente 90% e este resultado reforça a hipótese de atividade mixotrófica realizada pela microalga.

TABELA 5-8 - DEPURAÇÃO DE MATÉRIA ORGÂNICA E NUTRIENTES NO FBR

Amostra	Entrada (mg/L)	Saída (mg/L)
COD	415	41,8
Orto P	13,42	0,71
P _{td}	8,84	0,04
N-NH ₄ ⁺	249,95	5,67
NO ₂ ⁻	0,01	6,99
NO ₃ ⁻	0,45	4,45
N _{td}	246,55	59,34

FONTE: O autor (2015)

Portanto, do ponto de vista de biorremediação o FBR piloto se mostrou igualmente uma poderosa ferramenta capaz de tratar o efluente suíno com alta eficiência, logo precisa ser mais explorado e adequado para tal finalidade.

Os resultados de depuração de matéria orgânica e nutrientes observados nos ALs e no FBR piloto estão em conformidade com a resolução CONAMA 430 para a disposição em rios classe 3 quando se analisa o nitrogênio amoniacal total cuja concentração final está abaixo de 20 mg.L^{-1} , nitrato inferior a 10 mg.L^{-1} , e do fósforo que é inferior 4 mg.L^{-1} , porém, quanto ao nitrito cuja concentração é superior a 1 mg.L^{-1} se verifica um aumento na concentração na ordem de sete vezes e pela análise do nitrogênio total dissolvido verifica-se uma concentração superior 59 mg.L^{-1} . Uma explicação para este comportamento pode ser encontrada quando se considera que há a liberação de metabólitos secundários pelas microalgas na forma de moléculas proteicas e exopolissacarídicas solúveis no meio que carregam consigo grupamentos aminas que quando lidos pela metodologia vigente para o nitrito aumentam muito o seu valor e somado a isto, pode considerar também o ciclo de nitrogênio no meio que transforma o nitrogênio amoniacal em nitrito durante o metabolismo.

5.4.1 Recuperação por floculação da biomassa produzida no FBR tubular piloto

A implementação do cultivo de microalgas em efluente suíno biodigerido já é realidade no NPDEAS e rendeu produtividades de biomassa que tornam o instituto uma referência brasileira no setor de produção de biomassa. Desde a padronização da tecnologia de produção de biomassa em efluente suíno e seu processo de separação e recuperação via floculação com o Tanfloc SG no NPDEAS, foram produzidos 131 kg de biomassa seca a partir de 176 m^3 de volume de cultivo, nos quais foram tratados aproximadamente $8,3 \text{ m}^3$ (TABELA 5-9). Esta biomassa produzida está sendo usada em diversas linhas de pesquisa, dos quais se destacam a extração de ácidos graxos para produção de biodiesel e o uso da biomassa como suplemento nutricional para peixes e os resultados se mostraram animadores para futuras publicações científicas pelo grupo.

TABELA 5-9 - PRODUÇÃO DE BIOMASSA NO FBR AO LONGO DO ESTUDO

	Mês	Volume processado (L)	Efluente tratado (L)	Biomassa seca (kg)	Concentração média (mg L⁻¹)
2013	Junho	7200		4,546	630
	Julho	5700		1,489	260
	Agosto	11000		9,143	830
	Setembro	3000		2,95	980
	Outubro	8000		7,96	1000
	Novembro	11900		7,105	600
	Dezembro	12400		8,155	660
	Janeiro	7300		6,965	950
	Fevereiro	5400		5,775	1070
	Março	4000		4,653	1160
	Abril	3800		3,715	980
	Maio	10800		9,565	890
2014	Junho	12000		8,132	680
	Julho	11000		9,284	840
	Agosto	12000		11,407	950
	Setembro	4800		4,395	920
	Outubro	3000		3,2	1070
	Novembro	5000		4,337	870
	Dezembro	12000		7,824	650
2015	Janeiro	16000		10,138	630
	TOTAL	175900	8315	131	790

FONTE: O Autor (2014)

6 CONCLUSÕES

Com base nos resultados observados durante os cultivos tanto nos reatores Airlifts quanto no reator piloto industrial é possível afirmar que a matéria orgânica e os nutrientes presentes no efluente suíno biodigerido desempenham um papel crucial na geração da biomassa e fornecem fortes indícios de atividade mixotrófica pela microalga, visto que com o tratamento térmico do efluente em autoclave foi possível remover a maioria dos microrganismos contaminantes e se aumentar a biodisponibilidade da matéria orgânica e nutrientes do efluente suíno biodigerido e com isto aumentar as produtividades celular e de biomassa. Portanto,

1. O caráter mixotrófico do cultivo foi comprovada durante a análise da redução dos teores de COD e estes dados estão em concordância com a literatura. O uso de efluente suíno biodigerido para o cultivo de microalgas se torna uma alternativa barata, eficiente e ambientalmente correta de geração de biomassa de microalgas devido ao seu teor nutricional e orgânico;
2. As eficiências de depuração da matéria orgânica e nutrientes observadas nos FBRs indicam que estes reatores são uma poderosa ferramenta de biorremediação que pode ser mais explorado para tal finalidade.
3. O uso do Tanfloc como ferramenta de recuperação da biomassa apresentou rendimentos similares aos melhores flocculantes descritos pela literatura, entretanto a sua preferência se deve a sua disponibilidade, a não toxicidade para a biomassa, ao seu baixo custo e a facilidade operacional no pós processamento da biomassa.
4. O aumento de escala de cultivo e produção de biomassa de microalgas usando o fotobiorreator tubular piloto tornou o NPDEAS autônomo na geração de biomassa, além de diminuir os teores de nutrientes e matéria orgânica do efluente suíno biodigerido, evidenciando o papel sustentável que o grupo se propôs em desempenhar.

O processo de recuperação da biomassa e o cultivo no FBR tubular apresentaram resultados excelentes que permitem aumentar a viabilidade técnica e econômica do uso cultivo de microalgas para fins energéticos, entretanto ainda se necessita de estudos e melhorias da extração lipídica se a finalidade for usar a biomassa resultante na geração de biodiesel;

6.1 ATIVIDADES FUTURAS

Para melhorar as características do processo global de produção de microalgas usando efluente suíno biodigerido os seguintes tópicos serão estudados na sequência:

- Propor um modelo matemático para a descrição e validação experimental dos experimentos nos ALs;

- Determinar o teor de lipídeos e uma metodologia para sua extração em escala piloto;

- Potencializar o uso da biomassa de microalgas como biorrefinaria.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABATZOGLOU, N.; BOIVIN, S. A review of biogas purification processes. **Biofuels Bioproducts & Biorefining-Biofpr**, v. 3, n. 1, p. 42-71, Jan-Feb 2009. ISSN 1932-104X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000264624400014 >.

AHMAD, A. L. et al. Optimization of microalgae coagulation process using chitosan. v. 173, n. 3, p. 879–882, 1 October 2011 2011. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2011.07.070> >.

AHRING, B. K. METHANOGENESIS IN THERMOPHILIC BIOGAS REACTORS. **Antonie Van Leeuwenhoek International Journal of General and Molecular Microbiology**, v. 67, n. 1, p. 91-102, 1995. ISSN 0003-6072. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1995QG66600006 >.

AKPOR, O. B.; MUCHIE, M. Bioremediation of polluted wastewater influent: Phosphorus and nitrogen removal. **Scientific Research and Essays**, v. 5, n. 21, p. 3222-3230, Nov 4 2010. ISSN 1992-2248. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000284553700004 >.

AMBIENTE, M. D. M. **Resolução CONAMA 430** 2011.

ANDERSEN, R. A. The Microalgal Cell. In: (Ed.). **Handbook of Microalgal Culture**: John Wiley & Sons, Ltd, 2013. p.1-20. ISBN 9781118567166.

ANDRADE, M. D. R. et al. Culture of microalga *Spirulina platensis* in alternative sources of nutrients. **Ciênc. agrotec.**, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, 10/2008 2008. ISSN 1413-7054. Disponível em: < http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S1413-70542008000500029&lng=en&nrm=iso&tlng=pt >.Disponível em: <

ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. Culture of microalga *Spirulina platensis* in alternative sources of nutrients. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, Sep-Oct 2008. ISSN 1413-7054. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000261816400029 >.

ATABANI, A. E. et al. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 4, p. 2070-2093, May 2012. ISSN 1364-0321. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000302823000024 >.

AUDIBERT, J. L.; FERNANDES, F. Preliminary qualitative and quantitative assessment of gases from biodigestion of solid wastes in the landfill of Londrina, Parana State, Brazil. **Acta Scientiarum-Technology**, v. 35, n. 1, p. 45-52, 2013. ISSN 1806-2563. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000315355200007 >.

BECKER, E. W. **Microalgae: Biotechnology and Microbiology**. Cambridge University Press, 1994. ISBN 9780521350204. Disponível em: < <http://books.google.com.br/books?id=KAKx4I7NWEYC> >.

BEKKERING, J.; BROEKHUIS, A. A.; VAN GERNERT, W. J. T. Optimisation of a green gas supply chain - A review. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 2, p. 450-456, Jan 2010. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000271165700002 >.

BELTRÁN HEREDIA, J.; SÁNCHEZ MARTÍN, J. Removing heavy metals from polluted surface water with a tannin-based flocculant agent. **Journal of Hazardous Materials**, v. 165, n. 1-3, p. 1215-1218, 6/15/ 2009. ISSN 0304-3894. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389408014726> >.

BINACIONAL, I.; FAO. Agroenergia da biomassa residual: perspectivas energéticas, socioeconômicas e ambientais., Foz do Iguaçu, PR - Brasil, 2009. Disponível em: < https://www.fao.org.br/download/agroenergia_biomassa_residual251109.pdf >.

BOECKAERT, C. et al. Micro-algae as potent rumen methane inhibitors and modifiers of rumen lipolysis and biohydrogenation of linoleic and linolenic acid. **International Congress Series**, v. 1293, n. 0, p. 184-188, 7// 2006. ISSN 0531-5131. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0531513106000549> >.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 557-577, Feb 2010. ISSN 1364-0321. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000274165600001 >.

CAI, T.; PARK, S. Y.; LI, Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 19, p. 360-369, Mar 2013. ISSN 1364-0321. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000314905000027 >.

CAREY, R. O. et al. Evaluating nutrient impacts in urban watersheds: Challenges and research opportunities. **Environmental Pollution**, v. 173, p. 138-149, Feb 2013. ISSN 0269-7491. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000313845500020 >.

CHEN, C.-Y. et al. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 71-81, Jan 2011. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000285658300010 >.

CLESCERI, L. S.; GREENBERG, A. E.; EATON, A. D. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition**. APHA American Public Health Association, 1998. Disponível em: < <http://books.google.co.in/books?id=2BcoYAAACAAJ>>.

CORRÊA, D. D. O. **Cultivo semicontínuo de uma microalga do gênero Scenedesmus em fotobiorreator tubular compacto para produção de biodiesel e caracterização do sistema de cultivo**. 2013-07-12. 2013. (Monografia Graduação)

DA ROSA ANDRADE, M.; VIEIRA COSTA, J. A. Culture of microalga *Spirulina platensis* in alternative sources of nutrients. **Ciencia E Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, Sep-Oct 2008. ISSN 1413-7054. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000261816400029 >.

DICHTL, N.; ROGGE, S.; BAUERFELD, K. Novel strategies in sewage sludge treatment. **Clean-Soil Air Water**, v. 35, n. 5, p. 473-479, Nov 2007. ISSN 1863-0650. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000251007000021 >.

FIERRO, S.; SANCHEZ-SAAVEDRA, M. D. P.; COPALCUA, C. Nitrate and phosphate removal by chitosan immobilized *Scenedesmus*. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 5, p. 1274-1279, Mar 2008. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000253250900049 >.

GANTAR, M.; OBREHT, Z.; DALMACIJA, B. NUTRIENT REMOVAL AND ALGAL SUCCESSION DURING THE GROWTH OF SPIRULINA-PLATENSIS AND SCENEDESMUS-QUADRICAUDA ON SWINE WASTE-WATER. **Bioresource Technology**, v. 36, n. 2, p. 167-171, 1991. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:A1991FL44700009 >.

GERDE, J. A. et al. Microalgae flocculation: Impact of flocculant type, algae species and cell concentration. **Algal Research**, v. 3, n. 0, p. 30-35, 1// 2014. ISSN 2211-

9264. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2211926413001148> >.

GONG, Y.; JIANG, M. Biodiesel production with microalgae as feedstock: from strains to biodiesel. **Biotechnology Letters**, v. 33, n. 7, p. 1269-1284, Jul 2011. ISSN 0141-5492. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000291655700001 >.

GROSSI, G.; LICHTIG, J.; KRAUSS, P. PCDD/F, PCB and PAH content of Brazilian compost. **Chemosphere**, v. 37, n. 9-12, p. 2153-2160, Oct-Nov 1998. ISSN 0045-6535. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000076618700047 >.

HARUN, R. et al. Technoeconomic analysis of an integrated microalgae photobioreactor, biodiesel and biogas production facility. **Biomass and Bioenergy**, v. 35, n. 1, p. 741-747, 1// 2011. ISSN 0961-9534. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0961953410003594> >.

HODAIFA, G.; MARTÍNEZ, M. E.; SÁNCHEZ, S. Use of industrial wastewater from olive-oil extraction for biomass production of *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 5, p. 1111-1117, 3// 2008. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852407001678> >.

HU, Q. Environmental Effects on Cell Composition. In: (Ed.). **Handbook of Microalgal Culture**: John Wiley & Sons, Ltd, 2013. p.114-122. ISBN 9781118567166.

I. RAWAT, R. R. K., T. MUTANDA AND F. BUX. Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production. v. 103, p. 444–467, March 2013 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2012.10.004> >.

JIANG, X. Y.; SOMMER, S. G.; CHRISTENSEN, K. V. A review of the biogas industry in China. **Energy Policy**, v. 39, n. 10, p. 6073-6081, Oct 2011. ISSN 0301-4215. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000295753000040 >.

JIMENEZ-PEREZ, M. V. et al. Growth and nutrient removal in free and immobilized planktonic green algae isolated from pig manure. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 34, n. 5, p. 392-398, Apr 2004. ISSN 0141-0229. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000220645800003 >.

KAO, C.-Y. et al. Ability of a mutant strain of the microalga *Chlorella* sp to capture carbon dioxide for biogas upgrading. **Applied Energy**, v. 93, p. 176-183, May 2012. ISSN 0306-2619. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000302836500024 >.

KIM, D.-G. et al. Harvest of *Scenedesmus* sp. with bioflocculant and reuse of culture medium for subsequent high-density cultures. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 3, p. 3163-3168, 2// 2011. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852410017645> >.

KIM, M. K. et al. Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 11, p. 2220-2228, Aug 2007. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000245970500023 >.

KOLLER, M. et al. Characteristics and potential of micro algal cultivation strategies: a review. **Journal of Cleaner Production**, v. 37, n. 0, p. 377-388, 12// 2012. ISSN 0959-6526. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0959652612003824> >.

KUMAR, C. G.; ANAND, S. K. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. **International Journal of Food Microbiology**, v. 42, n. 1-2, p. 9-27, 6/30/ 1998. ISSN 0168-1605. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168160598000609> >.

LEE, R. E. **Phycology**. Cambridge University Press, 2008. ISBN 9781139469876. Disponível em: < <http://books.google.com.br/books?id=gfolAFHgusgC> >.

LEMOS, J. D. S. **Desenvolvimento de sistema de tratamento e reciclagem de meio de cultivo de microalgas para produção de biodiesel**. 2013-03-15. 2013. (Tese e Dissertação)

LI, T. et al. Mixotrophic cultivation of a *Chlorella sorokiniana* strain for enhanced biomass and lipid production. **Biomass & Bioenergy**, v. 66, p. 204-213, Jul 2014. ISSN 0961-9534; 1873-2909. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000337877100022 >.

LI, Y. et al. Production of biomass and lipid by the microalgae *Chlorella protothecoides* with heterotrophic-Cu(II) stressed (HCuS) coupling cultivation. **Bioresource Technology**, v. 148, p. 283-292, Nov 2013. ISSN 0960-8524; 1873-2976. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000326905400040 >.

LU CHEN, C. W., WEIGUO WANG, JIANG WEI. Optimal conditions of different flocculation methods for harvesting *Scenedesmus* sp. cultivated in an open-pond

system. v. 133, p. 9–15, April 2013 2013. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.01.071> >.

MAITY, J. P. et al. Microalgae for third generation biofuel production, mitigation of greenhouse gas emissions and wastewater treatment: Present and future perspectives – A mini review. **Energy**, n. 0, ISSN 0360-5442. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0360544214004150> >.

Corrêa, D. O. **Cultivo semicontínuo de uma microalga do gênero Scenedesmus em fotobiorreator tubular compacto para produção de biodiesel e caracterização do sistema de cultivo**. 2013-07-12. 2013. (Monografia Graduação)

MARTÍNEZ, M. E. et al. Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v. 73, n. 3, p. 263-272, 7// 2000. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852499001212> >.

MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G.; KOBLÍŽEK, M. Photosynthesis in Microalgae. In: (Ed.). **Handbook of Microalgal Culture**: John Wiley & Sons, Ltd, 2013. p.21-36. ISBN 9781118567166.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217-232, Jan 2010. ISSN 1364-0321. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000271279100012 >.

MATA, T. M. et al. Parametric study of a brewery effluent treatment by microalgae *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v. 107, n. 0, p. 151-158, 3// 2012. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S096085241101889X> >.

MIYAWAKI, B. **Purificação de Biogás através de cultivo de microalgas em resíduos agroindustriais**. 2014. 2014. (Dissertação)

MOHAMED, M. S. et al. Kinetics and modeling of microalga *Tetraselmis* sp FTC 209 growth with respect to its adaptation toward different trophic conditions. **Biochemical Engineering Journal**, v. 88, p. 30-41, Jul 15 2014. ISSN 1369-703X; 1873-295X. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000338612000005 >.

MOLINA GRIMA, E.; BELARBI, E. H.; FERNÁNDEZ, F. G. A. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. v. 20, n. Issues 7–8, p. 491–515, January 2003 2003. Disponível em: < [http://dx.doi.org/10.1016/S0734-9750\(02\)00050-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0734-9750(02)00050-2) >.

MORAIS, K. C. C. **Análise e desenvolvimento de aquicultura da microalga *Phaeodactylum Tricornutum* em crescimento autotrófico e mixotrófico em fotobiorreatores compactos.** 2013-10-01. 2013. (Dissertação)

MULBRY, W. et al. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: Algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 8137-8142, 11// 2008. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852408003106> >.

MURPHY, J.; RILEY, J. P. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. **Analytica Chimica Acta**, v. 27, n. 0, p. 31-36, // 1962. ISSN 0003-2670. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267000884445> >.

OBAJA, D. et al. Nitrification, denitrification and biological phosphorus removal in piggery wastewater using a sequencing batch reactor. **Bioresource Technology**, v. 87, n. 1, p. 103-111, Mar 2003. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000180997500016 >.

OBAJA, D.; MACE, S.; MATA-ALVAREZ, J. Biological nutrient removal by a sequencing batch reactor (SBR) using an internal organic carbon source in digested piggery wastewater. **Bioresource Technology**, v. 96, n. 1, p. 7-14, Jan 2005. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000224664000002 >.

PARMAR, A. et al. Cyanobacteria and microalgae: A positive prospect for biofuels. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 22, p. 10163-10172, Nov 2011. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000297657400001 >.

PRAGYA, N.; PANDEY, K. K.; SAHOO, P. K. A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**, v. 24, p. 159-171, Aug 2013. ISSN 1364-0321. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000320489400017 >.

PRUVOST, J. et al. Investigation of biomass and lipids production with *Neochloris oleoabundans* in photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5988-

5995, Dec 2009. ISSN 0960-8524. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000269812600066 >.

RAWAT, I. et al. Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3411-3424, Oct 2011. ISSN 0306-2619. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000292808400020 >.

RAWAT, I. et al. Biodiesel from microalgae: A critical evaluation from laboratory to large scale production. **Applied Energy**, v. 103, p. 444-467, Mar 2013. ISSN 0306-2619. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000314669500044 >.

RIAÑO, B.; MOLINUEVO, B.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M. C. Optimization of chitosan flocculation for microalgal-bacterial biomass harvesting via response surface methodology. **Ecological Engineering**, v. 38, n. 1, p. 110-113, 1// 2012. ISSN 0925-8574. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0925857411003302> >.

RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Wiley, 2008. ISBN 9781405172493. Disponível em: < <http://books.google.com.br/books?id=KdHgq2CbTPwC> >.

SAKUMA, A. C. **Desenvolvimento e análise experimental de Biodigestores modulares de baixo tempo de residência**. 2013. (Dissertação)

SAN PEDRO, A. et al. Outdoor pilot-scale production of *Nannochloropsis gaditana*: Influence of culture parameters and lipid production rates in tubular photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 169, p. 667-676, Oct 2014. ISSN 0960-8524; 1873-2976. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000340894400091 >.

SELESU, N. F. H. et al. **PROCESSOS DE LIMPEZA EM FOTOBIOREATOR TUBULAR PARA PRODUÇÃO DE MICROALGAS**. Universidade Federal do Paraná. 2012

SHARMA, K. K.; SCHUHMANN, H.; SCHENK, P. M. High Lipid Induction in Microalgae for Biodiesel Production. **Energies**, v. 5, n. 5, p. 1532-1553, May 2012. ISSN 1996-1073. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000304450700015 >.

SHIMADZU. Analisador de Carbono Orgânico Total TOC-V : SHIMADZU. 2014. Disponível em: < <http://www.shimadzu.com.br/analitica/produtos/toc/toc-v.shtml> >.

TAHER, D. M. **Biodiesel de microalgas cultivadas em dejetos suíno biodigerido**. 2013. 2013. (Dissertação)

UDUMAN, N.; QI, Y.; DANQUAH, M. K. Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement. v. 162, n. 3, p. 935–940, 1 September 2010 2010. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2010.06.046> >.

VARGAS, J. V. C. et al. The microalgae derived hydrogen process in compact photobioreactors. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 39, n. 18, p. 9588-9598, Jun 2014. ISSN 0360-3199. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000337859700003 >.

VARGAS, J. V. C. et al. Modeling and simulation of the microalgae derived hydrogen process in compact photobioreactors. **2013 1st IEEE Conference on Technologies for Sustainability (Sustech)**, p. 184-191, 2013. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000335001300029 >.

VEGA, B.; LOBINA, D. Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal. In: NOROESTE, C. D. I. B. D. (Ed.), 2007. cap. 2,

VIANCELLI, A. et al. Performance of two swine manure treatment systems on chemical composition and on the reduction of pathogens. **Chemosphere**, v. 90, n. 4, p. 1539-1544, Jan 2013. ISSN 0045-6535. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000314429700030 >.

VIEIRA, R. B. et al. Sedimentation of mixed cultures using natural coagulants for the treatment of effluents generated in terrestrial fuel distribution terminals. **Journal of Hazardous Materials**, v. 231–232, n. 0, p. 98-104, 9/15/ 2012. ISSN 0304-3894. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304389412006863> >.

VIVAN, M. et al. Efficiency of biodigester and stabilization pond interaction in removal of swine manure pollutants. **Revista Brasileira De Engenharia Agrícola E Ambiental**, v. 14, n. 3, p. 320-325, Mar 2010. ISSN 1415-4366. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000208664800013 >.

WANG, H.-Y.; BLUCK, D.; VAN WIE, B. J. Conversion of microalgae to jet fuel: Process design and simulation. **Bioresour. Technol.**, v. 167, p. 349-357, Sep 2014. ISSN 0960-8524; 1873-2976. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000340891500049 >.

WILEY, P. E.; CAMPBELL, J. E.; MCKUIN, B. Production of Biodiesel and Biogas from Algae: A Review of Process Train Options. **Water Environment Research**, v. 83, n. 4, p. 326-338, Apr 2011. ISSN 1061-4303. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000289079900004 >.

YOO, S. J.; KIM, J. H.; LEE, J. M. Dynamic modelling of mixotrophic microalgal photobioreactor systems with time-varying yield coefficient for the lipid consumption. **Bioresource Technology**, v. 162, p. 228-235, Jun 2014. ISSN 0960-8524; 1873-2976. Disponível em: < <Go to ISI>://WOS:000335909700030 >.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. v. 25, n. 3, p. 294–306, May–June 2007 2007. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2007.02.001> >.